

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関
国際事務局



(43)国際公開日
2001年2月8日 (08.02.2001)

PCT

(10)国際公開番号
WO 01/09317 A1

(51)国際特許分類?: C12N 15/12, C07K
14/47, C12N 5/10, 1/21, 1/19, C12P 21/02, C07K 16/18,
G01N 33/53, 33/577, C12Q 1/02, 1/68

(21)国際出願番号: PCT/JP00/05063

(22)国際出願日: 2000年7月28日 (28.07.2000)

(25)国際出願の言語: 日本語

(26)国際公開の言語: 日本語

(30)優先権データ:
特願平11/248036 1999年7月29日 (29.07.1999) JP
特願平11/300253 1999年8月27日 (27.08.1999) JP
60/159,590 1999年10月18日 (18.10.1999) US
特願2000/118776 2000年1月11日 (11.01.2000) JP
60/183,322 2000年2月17日 (17.02.2000) US
特願2000/183767 2000年5月2日 (02.05.2000) JP
特願2000/241899 2000年6月9日 (09.06.2000) JP

(71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社
ヘリックス研究所(HELIX RESEARCH INSTITUTE)
[JP/JP]; 〒292-0812 千葉県木更津市矢那1532番地3
Chiba (JP).

(72)発明者; および
(75)発明者/出願人(米国についてのみ): 太田紀夫(OTA,
Toshio) [JP/JP]; 〒251-0042 神奈川県藤沢市辻堂新町
1-2-7-105 Kanagawa (JP). 磯貝隆夫 (ISOGAI, Takao)
[JP/JP]; 〒300-0303 茨城県稻敷郡阿見町大室511-12

Ibaraki (JP). 西川哲夫 (NISHIKAWA, Tetsuo) [JP/JP];
〒173-0013 東京都板橋区氷川町27-3-403 Tokyo (JP).
林 浩司 (HAYASHI, Koji) [JP/JP]; 〒299-0125 千葉県市原市有秋台西1-9-446 Chiba (JP). 斎藤 薫
(SAITO, Kaoru) [JP/JP]; 〒292-0056 千葉県木更津市
木更津8-2-1-201 Chiba (JP). 山本順一 (YAMAMOTO,
Jun-ichi) [JP/JP]; 〒292-0041 千葉県木更津市清見台
東3-28-3-A101 Chiba (JP). 石井静子 (ISHII, Shizuko)
[JP/JP]; 〒292-0812 千葉県木更津市矢那4508-19-202
Chiba (JP). 杉山友康 (SUGIYAMA, Tomoyasu) [JP/JP];
〒292-0045 千葉県木更津市清見台2-6-23-102 Chiba
(JP). 若松 愛 (WAKAMATSU, Ai) [JP/JP]; 〒292-0014
千葉県木更津市高柳1473-4-202 Chiba (JP). 永井啓一
(NAGAI, Keiichi) [JP/JP]; 〒207-0022 東京都東大
和市様が丘3-44-14-9-204 Tokyo (JP). 大槻哲嗣 (OT-
SUKI, Tetsuji) [JP/JP]; 〒292-0055 千葉県木更津市
朝日3-1-10-B102 Chiba (JP). 油谷浩幸 (ABURATANI,
Hiroyuki) [JP/JP]; 〒180-0003 東京都武蔵野市吉祥
寺南町3-30-16 Tokyo (JP). 児玉龍彦 (KODAMA,
Tatsuhiko) [JP/JP]; 〒141-0021 東京都品川区上大崎
2-13-22-909 Tokyo (JP). 緑川 泰 (MIDORIKAWA,
Yutaka) [JP/JP]; 〒141-0022 東京都品川区東五反田
4-3-30-202 Tokyo (JP).

(74)代理人: 清水初志, 外 (SHIMIZU, Hatsuhi et al.); 〒
300-0847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階
Ibaraki (JP).

(81)指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT,

[総葉有]

(54)Title: STOMACH CANCER-ASSOCIATED GENE

(54)発明の名称: 胃癌関連遺伝子

(57)Abstract: A gene showing a change in the expression level in stomach cancer or stomach cancer metastatic focus. This gene and the protein encoded thereby are useful in presuming the canerization of stomach cancer or the malignancy of scirrhouus stomach cancer. Also, it is expected that the above gene and protein are usable as the target in designing drugs.

WO 01/09317 A1

(57)要約:

本発明は、胃癌や胃癌の転移巣において発現レベルが変化している遺伝子を提供する。本発明の遺伝子、ならびにそれがコードするタンパク質は、胃癌の癌化や、スキルス胃癌の悪性度の予測において有用である。また、胃癌の発生やその転移を防止するための創薬ターゲットとして期待できる。



RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

添付公開書類:
— 国際調査報告

- (84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明細書

胃癌関連遺伝子

技術分野

本発明は、胃癌に関連する遺伝子に関する。

背景技術

胃癌は世界的に見ても日本人に多く見られる癌であり、日本における癌死亡原因の上位にランクされる重要な疾病である。胃癌は、早期に発見されて、早期に外科的に治療できたケースでは5年生存率も90%を超える良好な成績が得られている。一方、手術不能な進行癌や転移を有するケースでは有効な抗癌剤が開発されていないため、予後不良である。

臨床現場で有用な、胃癌特異的腫瘍マーカーが開発されていないことが、胃癌の早期発見を困難にしている。胃癌の発癌や悪性化と関連して発現が増加する遺伝子についての報告は少ないため、早期発見につながる胃癌の指標は知られていない。そのため胃癌の早期発見を目的とするスクリーニング方法として、X線間接撮影が広く行われてきた。しかしX線の被曝の機会を増やすことや、読影技術によって検査成績が大きく左右されることなどの問題点が指摘された。その後、血清ペプシノーゲンの値が、胃癌の先行病変である萎縮性胃炎を反映することが報告され、胃癌のスクリーニング方法に応用された。しかしひペプシノーゲンは、胃で分泌される消化酵素の前駆体であり、胃癌治療の標的分子とはできない。また、ペプシノーゲン法は胃癌の悪性度の指標とはならない。

胃癌の原因遺伝子が同定されれば、その発現レベルや活性化を指標として胃癌の早期発見が可能となる。あるいは、胃癌の発癌や悪性化にともなって発現レベルが変化する遺伝子を見出せば、やはり胃癌の早期発見や予後の推

定を容易にするものと期待できる。

一方、胃癌患者の中には、原発巣を切除したのにもかかわらず治癒しなかった例（非治癒切除症例）もしばしば認められる。その大きな原因是、腹膜播種（peritoneal metastasis）である（外科治療 75: 96-102, 1996, Jpn. Surgery 19: 153, 1989）。腹膜播種は、胃癌切除手術後の再発形式で最も頻度の高いものである。腹膜播種に対する様々な治療方法が試みられたが、未だに十分な成績は得られていない。腹膜播種はスキルス胃癌（scirrhus gastric cancer）に特徴的な進展様式といえる（日病会誌 81:21-49, 1992）。

胃癌の腹膜播種は、漿膜から遊離した癌細胞が腹膜に着床して増殖するという、単純な過程から成立しているものと予想される。しかし、腹膜内に遊離した癌細胞の全てが播種形成に至ることは無い。このことは、スキルス胃癌に由来する細胞をヌードマウスの腹腔に移植しても播種を形成する頻度が低いことからも推測される。したがって、特殊な形質を有する細胞だけが播種の形成に至るのではないかと予想されているが、播種形成の詳細な機序については明らかにされていない。

これまでの報告によれば、次のような特徴を持つスキルス胃癌に比較的腹膜播種が多くみられるとされている（日消外会誌 23:1813-1820, 1990、日消外会誌 25:763-774, 1992）。

肉眼型では3型、あるいは4型の浸潤型

組織型では低分化型

高度のリンパ節転移陽性例

しかし現実には、このような臨床病理学的な特徴だけで腹膜播種形質を説明することは難しい。そこで、腹膜播種の機序を明らかにするために、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3が樹立された。OCUM-2MD3は、腹膜播種を起こしにくい親株OCUM-2Mから誘導された亜株である。親株OCUM-2Mは、スキルス胃癌原発巣から樹立された胃癌細胞株で、腹膜播種はヌードマウスの腹腔に接種しても腹膜播種を起こすこ

とは稀である。一方その亜株OCUM-2MD3は、 5×10^6 個以上の細胞数で100%の播種形成が見られる(Br. J. Cancer 72:1200-1210, 1995, Clin & Exp Metastasis 14: 43-54, 1996)。OCUM-2MD3は、親株OCUM-2Mをマウスの腹腔に接種し、腹膜播種を起こした細胞を回収して再び培養系で増殖させ、更にこれをヌードマウスの腹腔に接種して認められた腹膜播種巣から樹立した細胞株である。これまでに樹立された胃癌細胞株の多くは腹膜播種を起こさないので、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3は胃癌の腹膜播種の代表的なモデルとして用いられている。

高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3を実験材料として、腹膜播種に関連すると思われるいくつかの分子の存在が明らかにされた。たとえば細胞接着因子であるE-カドヘリンは、親株OCUM-2Mに比べてOCUM-2MD3において低下している。このことは、OCUM-2MD3が細胞間接着が弱く、そのため原発巣から離脱しやすいことを裏付けている。また、癌細胞の浸潤に密接に関連している細胞外マトリックス分解酵素MMPの一つであるMMP-1の産生が、親株OCUM-2Mに比べてOCUM-2MD3において上昇している。MMP-1は胃壁の構成タンパク質に特徴的なタイプ1コラーゲンやタイプ3コラーゲンに作用する酵素であることから、MMP-1の産生は原発巣から腹腔への離脱傾向を裏付けているといえる。事実、マトリゲルへの浸潤能をinvasion assayによって比較すると、OCUM-2MD3は親株OCUM-2Mに比べて高い浸潤能を示す。

他方、癌細胞の腹膜への接着を支える因子として、CD44Hや β_1 -インテグリンファミリーの存在が明らかにされた。これらの接着因子は、OCUM-2MD3で発現が亢進している。腹膜中皮に存在するヒアルロン酸がCD44の、そして腹膜間質を構成するフィブロネクチンやラミニンが β_1 -インテグリンファミリーのリガンドとして機能し、OCUM-2MD3の腹膜への接着を助けている可能性が示唆されている(Jap. J. Cancer Res. 87:1235-1244, 1996, Br. J. Cancer 74:1406-1412, 1996)。

このように腹膜播種を裏付ける様々な因子の存在が明らかにされてきたが、その治療にはなかなか結びついていないといわざるを得ない。したがって、腹膜播種の治療に結びつく可能性を持った新たな因子の解明が望まれている。

発明の開示

本発明の課題は、胃組織の癌化や、胃癌の悪性度を反映してその発現レベルが変化する遺伝子の提供である。

本発明者らは、胃癌細胞と正常細胞との間で遺伝子の発現状態を比較することによって、癌細胞で発現レベルの変化している遺伝子を見出すことができると考えた。現在、数万個から十万個と推定されているヒト遺伝子の中で、どの遺伝子の発現が胃癌で変化しているのかを明らかにするためには、多数の遺伝子の発現レベルを同時に比較解析できる技術が必須である。遺伝子の発現レベルの比較は、一般にディファレンシャル解析と呼ばれる解析手法である。ディファレンシャル解析には、従来northern blot法やRT-PCRが用いられていた。しかし、細胞で発現している全ての遺伝子を対象として、このような手法を適用するためには、莫大な労力と時間が必要になり、現実的でない。この他、遺伝子の発現状態の比較方法として、Differential Display法(DD法)も公知である。しかしDD法は、最終的に同定できる遺伝子の数が必ずしも多くないうえに高度な技術と多くの労力が必要とされる。

DNAチップは、予め塩基配列がわかっている数万から数10万種類におよぶオリゴヌクレオチド、あるいはポリヌクレオチドを高密度に固定したアレイで構成される。分析すべきターゲットを蛍光標識し、このプローブアレイと接触させる。ターゲットには、一般に様々な細胞に由来するcDNAや、cDNAを鑄型として合成されたcRNAが用いられる。ハイブリダイズ後にアレイを良く洗浄し、アレイ上に残る蛍光標識をスキャンして、どのプローブにターゲットがハイブリダイズしているのか、またその量はどの程度であるのかが明らかにされる。一連の操作は、ごく短時間に、しかも簡単に行うことができる。また1回の分析で数万から数10万種類におよぶ塩基配列について、個々の塩基配列の有無と量に関する情報が得られる。このようにして得られた情報は、発現プロファイル(expression profile)

と呼ばれている。ディファレンシャル解析をDNAチップによって行うには、異なる細胞の間で発現プロファイルを比較し、発現パターンの違っている塩基配列を選択すれば良い。

胃癌細胞に特異的に見出される遺伝子の発現レベルの変化を検出するには、例えば、胃癌細胞と正常細胞の組み合わせ、または原発性の胃癌細胞と転移癌細胞の組み合わせなどにおいて、遺伝子の発現レベルを比較し、胃癌細胞または悪性化において特異的に発現レベルが変化する遺伝子を同定する。このような考え方たに基づいて、本発明者らは、癌患者から採取した癌組織については、その癌腫と同じ組織に由来する正常組織や、転移腫瘍組織との比較を行った。

あるいは、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3に特異的に発現している遺伝子を単離すれば、スキルス胃癌の腹膜播種に関連する因子を明らかにできる可能性がある。本発明者らは、基本的な遺伝形質が共通でありながら、腹膜播種を引き起こす能力においてのみ相違する親株であるOCUM-2Mとの比較を行うことによって、効率的な遺伝子の単離が行えるのではないかと考えた。

こうして選択された塩基配列をもとに、cDNAライブラリーをスクリーニングすれば、最終的に癌細胞で特異的に発現レベルが変化している遺伝子を単離することができる。cDNAライブラリーは、癌細胞や正常細胞から公知の方法によって合成することができる。しかし、一般的な方法で合成されたcDNAライブラリーを用いたクローニングと、遺伝子の構造決定は、複数のポジティブクローンの配列決定とアセンブルを繰り返す時間のかかる作業である。本出願人は、cDNAライブラリーとして本出願人が構築した全長cDNAライブラリーとその塩基配列を収録したデータベースを利用することにより、このスクリーニングをきわめて迅速に行えることを見出した。

本発明に用いた全長cDNAライブラリーは、オリゴキャップ法 [K. Maruyama and S. Sugano, Gene, 138: 171-174 (1994); Y. Suzuki et al., Gene, 200: 149-156 (1997)]を応用して合成した全長率の高いものである。その5'側塩基配列の全てと、

3' 側塩基配列の大部分が明らかにされている。またその全長塩基配列についても、順次明らかにされつつある。そしてこの明らかにされた部分塩基配列、あるいは全長塩基配列と、公知の遺伝子やESTの塩基配列とのホモロジーサーチの結果が、すでにデータベース化されている。

このデータベースを用いて、DNAチップによるディファレンシャル解析の結果に基づいて選択された塩基配列に一致する塩基配列を備えたクローンを見つければ、ハイブリダイゼーションによるクローニングによらず全長cDNAクローンの取得が可能である。本発明は、このような経緯を経て完成された。すなわち本発明は、次のポリヌクレオチド、およびこのポリヌクレオチドによってコードされるタンパク質、並びにそれらの用途に関する。

表1. 本発明による塩基配列とアミノ酸配列の配列番号の対応

配列名	塩基配列	アミノ酸配列
C-HEMBA1002150	1	2
C-HEMBA1002417	3	4
C-HEMBA1002475	5	6
C-HEMBA1002716	7	
C-HEMBA1003615	8	9
C-HEMBA1003805	10	11
C-HEMBA1004055	12	13
C-HEMBA1004669	14	15
C-HEMBA1004889	16	17
C-HEMBA1005621	18	19
C-HEMBA1006676	20	21
C-HEMBA1007085	22	23
C-HEMBB1001294	24	25
C-HEMBB1001482	26	27
C-HEMBB1002600	28	29
C-MAMMA1000284	30	31
C-MAMMA1000416	32	33
C-MAMMA1001388	34	35
C-MAMMA1002143	36	37
C-MAMMA1002351	38	39
C-MAMMA1002461	40	41
C-NT2RM1000039	42	43
C-NT2RM1000055	44	45
C-NT2RM1000355	46	47
C-NT2RM1001105	48	49
C-NT2RM2000101	50	51
C-NT2RM2000522	52	53
C-NT2RM2001345	54	55
C-NT2RM2001637	56	57
C-NT2RM2001696	58	59
C-NT2RM4000027	60	61
C-NT2RM4000514	62	63
C-NT2RM4001155	64	65
C-NT2RM4001382	66	67
C-NT2RM4002390	68	69
C-NT2RM4002593	70	
C-NT2RP2000289	71	72
C-NT2RP2000459	73	74
C-NT2RP2001327	75	76
C-NT2RP2001420	77	78
C-NT2RP2002193	79	80
C-NT2RP2002208	81	82
C-NT2RP2002606	83	84
C-NT2RP2003272	85	86
C-NT2RP2004013	87	88
C-NT2RP2004242	89	90
C-NT2RP2005360	91	92
C-NT2RP3000109	93	94
C-NT2RP3000605	95	96
C-NT2RP3001730	97	98
C-NT2RP3002273	99	100

C-NT2RP3002399	101	102
C-NT2RP3002818	103	104
C-NT2RP3002948	105	106
C-NT2RP3003290	107	108
C-NT2RP3003876	109	110
C-NT2RP3004041	111	112
C-NT2RP4000973	113	114
C-OVARC1000781	115	116
C-OVARC1001270	117	118
C-OVARC1001726	119	120
C-PLACE1000133	121	122
C-PLACE1000786	123	124
C-PLACE1001845	125	126
C-PLACE1004506	127	128
C-PLACE1005409	129	
C-PLACE1005603	130	131
C-PLACE1006037	132	133
C-PLACE1006469	134	135
C-PLACE1008947	136	137
C-PLACE3000242	138	139
C-PLACE4000052	140	141
C-THYRO1000401	142	143
C-Y79AA1000258	144	145
C-Y79AA1000784	146	147
C-Y79AA1001781	148	149

[1] 下記 (a) から (d) のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

- (a) 表 1 に示す配列番号に記載された塩基配列のいずれかを含むポリヌクレオチド、
- (b) 表 1 に示す配列番号に記載のアミノ酸配列のいずれかからなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド、
- (c) 表 1 に示す配列番号に記載のいずれかのアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および／または付加したアミノ酸配列からなり、前記アミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、
- (d) 表 1 に示す配列番号に記載されたいずれかの塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされ、前記塩基配列によってコードされるアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

- [2] [1] に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質の部分ペプチドをコードするポリヌクレオチド。
- [3] [1]、または[2] に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質、または部分ペプチド。
- [4] [1]、または[2] に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
- [5] [1]、もしくは[2] に記載のポリヌクレオチド、または[4] に記載のベクターを保持する形質転換体。
- [6] [5] に記載の形質転換体を培養し、発現産物を回収する工程を含む、[3] に記載の蛋白質または部分ペプチドの製造方法。
- [7] [1]、または[2] に記載のポリヌクレオチド、またはその相補鎖に相補的な塩基配列からなる少なくとも 15 塩基の長さを有するポリヌクレオチド。
- [8] [3] に記載の蛋白質または部分ペプチドに対する抗体。
- [9] [3] に記載の蛋白質と、[8] に記載の抗体の免疫学的な反応を観察する工程を含む、免疫学的測定方法。
- [10] 次の工程を含む、[1] に記載のポリヌクレオチドの発現を制御する化合物をスクリーニングする方法。
(a) 胃癌細胞に候補化合物を接触させる工程、
(b) 表 1 に示す配列番号に記載された塩基配列からなる遺伝子の胃癌細胞における発現レベルを、対照と比較する工程、
(c) 遺伝子の発現レベルを変化させる候補化合物を選択する工程、
- [11] 胃癌の発生および／または転移の制御における[10] に記載の方
法によって得ることができる化合物の使用。
- [12] 次の工程を含む、胃癌の検出方法。
(a) 生体試料中の[1] に記載のポリヌクレオチドを測定する工程、
(b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程

〔1 3〕 次の工程を含む、胃癌の検出方法。

- (a) 生体試料中の〔3〕に記載の蛋白質および／または部分ペプチドを測定する工程、
(b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程

本発明は、胃癌に関連する単離されたポリヌクレオチドに関する。本発明によって提供されるポリヌクレオチドは、正常組織と比較して、胃癌において特異的に発現レベルが変化している遺伝子、および／または原発性癌組織と比較して、転移癌において発現レベルが変化している遺伝子の塩基配列からなる。あるいは本発明によって提供されるポリヌクレオチドは、腹膜播種を起こしやすい胃癌細胞において特異的に発現レベルが変化している遺伝子の塩基配列からなる。

本発明においてポリヌクレオチドは、DNA、cDNAの他、ゲノムDNA、化学合成DNAあるいはRNAを含む。また本発明のポリヌクレオチドは、天然のヌクレオチドのみならず、人工的に合成されたヌクレオチド誘導体や、標識を導入したヌクレオチドを含むことができる。本明細書においては、ポリヌクレオチドに対して、用語オリゴヌクレオチドを用いる。オリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド鎖が短いことを意味する。用語ポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチドも含まれる。また本発明のポリヌクレオチドは、例えば、ベクター、自律複製性のプラスミドもしくはウイルス、または原核生物もしくは真核生物のゲノムDNAに組み込まれた組換えポリヌクレオチド、またはその他の配列とは独立した分離分子として存在する組換えポリヌクレオチドを含む。更に本発明のポリヌクレオチドは、付加的なポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部として存在する組換えDNAも含まれる。

本発明によって提供されるポリヌクレオチドの望ましい塩基配列の配列番号は表1に示したとおりである。表1には、これらの塩基配列がコードする蛋白質のアミノ酸配列の配列番号を併記した。本発明は、これらアミノ酸配列からなる蛋

白質を提供する。

表1に示された遺伝子の発現プロフィールは表2に示されている。表2の選出法に「5a」（#5で#3の5倍以上）、「5b」（#5で#12の5倍以上）、または「5c」（#5で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上）と記載された配列で示される遺伝子は、SCIDマウスの皮下へ移植後に腫瘍を形成したヒト胃癌細胞（#5）における発現が、正常胃粘膜（#3または#12）での発現よりも5倍以上、あるいは正常胃粘膜#3および#12双方に対して3倍以上増加したことを示しており、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。この条件に該当する遺伝子は、以下のものが含まれる：MAMMA1002351、NT2RP2001327、NT2RM1000355、Y79AA1000784、NT2RM4001382、NT2RM1000055、PLACE1008947、MAMMA1002461、NT2RP3004041、NT2RM2001637、PLACE1006469、HEMBA1002417、HEMBB1002600、NT2RM4002390、Y79AA1000258、NT2RM4000027、MAMMA1002143、NT2RP4000973、NT2RP2005360、HEMBA1003615、NT2RM2000522、HEMBA1002475、NT2RP2004242、NT2RM2001637、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1004889、HEMBA1006676、NT2RM2001696、NT2RM4002593、Y79AA1001781、HEMBA1003805、NT2RP2002606、NT2RP3003876、OVARC1001726、HEMBA1005621、NT2RM4000514、NT2RM1000039、MAMMA1001388、MAMMA1001388、HEMBA1007085、NT2RM2001345、NT2RP2000289、NT2RM4001155、およびNT2RP3002818。

また、表2の選出法に「13a」（#13で#3の5倍以上）、「13b」（#13で#12の5倍以上）、「13c」（#13で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上）、「18a」（#18で#3の5倍以上）、「18b」（#18で#12の5倍以上）、または「18c」（#18で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上）と記載された配列で示される遺伝子は、胃癌に由来する臨床検体（#13または#18）における発現が、正常胃粘膜（#3または#12）での発現よりも5倍以上増加、あるいは、正常胃粘膜#3および#12双方に対して3倍以上増加したことを示しており、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。この条件に該当する遺伝子は以下のものが含まれる：HEMBB1001294、NT2RP2001327、NT2RP2000459、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1002716、NT2RP2002193、

THYR01000401、OVARC1000781、PLACE4000052、NT2RP3002948、PLACE1001845、PLACE1006469、PLACE1000786、MAMMA1000416、PLACE1005409、NT2RP3000605、NT2RM4002390、HEMBA1004055、PLACE1005603、HEMBA1002150、Y79AA1000258、NT2RM1001105、PLACE1006037、OVARC1001270、HEMBB1001482、MAMMA1000416、PLACE1000133、NT2RP2004013、PLACE3000242、NT2RP3003290、HEMBA1006676、NT2RM2001696、HEMBA1007085、NT2RP3000109、PLACE1004506、PLACE1005409、NT2RP2003272、HEMBA1005621、NT2RP3002399、NT2RM2000101、NT2RP2002208、NT2RM4000514、NT2RP3002273、MAMMA1000284、HEMBA1007085、HEMBA1004669、および NT2RP3001730。

また、表2の選出法に「14」と記載された配列で示される遺伝子は、胃癌組織(#13)よりリンパ節転移巣(#14)で5倍以上発現が上昇したことを示しており、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。この条件に該当する遺伝子は以下のものが含まれる：NT2RP2001420、PLACE1000786、および MAMMA1002143。

また、配列番号：34（アミノ酸配列は配列番号：35）で示される配列を持つ遺伝子「MAMMA1001388」は、胃癌細胞株OCUM-2M (2M) より腹膜播種能の高い胃癌細胞株OCUM-2MD3 (D3) で5倍以上発現が上昇することが判明し、胃癌において発現が増加する遺伝子として選択された。

本発明のポリヌクレオチドとしては、本発明の蛋白質をコードしうるものであれば、その形態に特に制限はなく、cDNAの他、ゲノムDNA、化学合成DNAなども含まれる。また、本発明の蛋白質をコードしうる限り、遺伝暗号の縮重に基づく任意の塩基配列を有するポリヌクレオチドが含まれる。本発明の蛋白質をコードするポリヌクレオチドは、上記のように、表1に示した配列番号に記載のポリヌクレオチド配列もしくはその一部をプローブとしたハイブリダイゼーション法やこれらポリヌクレオチド配列の情報に基づき設計したプライマーを用いたPCR法等の常法により単離することができる。

表1に示す配列番号に記載された塩基配列からなる遺伝子は、リンパ節転移や

腹膜播種を伴う悪性度の高い胃癌細胞において見出された遺伝子を含む。したがって、これらの遺伝子の発現を解析すれば癌細胞の悪性度を知ることができる。癌細胞の悪性度は、治療戦略を考えるうえで重要な情報を与える。

胃癌の腹膜播種は、胃壁内部にある原発巣の組織が増殖・浸潤して胃壁外部に達し、更に漿膜から離脱して腹腔内に遊離する第一の段階と、遊離した細胞が腹膜に着床して増殖する第二の段階とによって成立すると考えられている。本発明の遺伝子は、高腹膜播種細胞株から単離されていることから、この一連の過程を支える重要な遺伝子であると考えられる。したがって、この遺伝子の機能を阻害することによって、腹膜播種の予防や治療が可能となる。また、高腹膜播種細胞株に特異的な本発明の遺伝子や、この遺伝子によってコードされる蛋白質は、胃癌の悪性度を評価する指標として有用である。ここで言う胃癌の悪性度とは、腹膜播種やリンパ節転移を起こす能力を意味する。

更に、本発明の遺伝子は胃癌の他、膵癌などの胃癌以外の消化器癌においても同様に、腹膜播種の予防や治療、あるいは悪性度の予測に用いることができる。腹膜播種やリンパ節転移は様々な消化器癌に共通して見られる悪性化のステップであることから、本発明の遺伝子が他の固形癌においても同様の役割を果たしている可能性が考えられる。

例えば、配列番号：32（アミノ酸配列は配列番号：33）で示される配列を持つ遺伝子「MAMMA1000416」は、胃癌のみならず肝癌においても発現が有意に上昇することが判明した。このことからも、本発明の遺伝子が、胃癌以外の固形癌においても発現が上昇している可能性が示唆される。

以上のように、本発明によって提供される塩基配列からなる遺伝子は、胃癌の発生や悪性度に密接に関連していると言える。そのため、この遺伝子の発現や、この遺伝子によってコードされる蛋白質の作用を調節することによって、胃癌の診断や治療を達成できるものと考えられる。すなわち本発明は、本発明の遺伝子発現を調節することができる化合物と、そのスクリーニング方法に関する。

より具体的には、生体内における本発明の遺伝子の発現を阻害すれば、胃癌の進行や転移を効果的に抑制できる。あるいは、本発明の蛋白質の働きを阻害することによっても、胃癌の抑制が達成される。前記遺伝子の発現を阻害するには、アンチセンス核酸医薬や、あるいはその転写調節領域を明らかにした上でデコイ核酸によって発現を阻害することができる。蛋白質の働きそのものを阻害するには、この蛋白質に結合する化合物の投与によって活性部位の立体構造に変化を与えた後、あるいは蛋白質とその標的化合物との結合を妨げることが有効である。

更に、本発明の蛋白質を利用して癌ワクチンを開発することもできる。すなわち本発明の遺伝子によってコードされる蛋白質やその断片に対する免疫応答を誘導することができれば、胃癌に対する免疫学的な排除機構を強めることができる。このような免疫応答は、生体内に本発明による蛋白質やその断片を生体内に投与することによって引き起こされる。生体内への蛋白質の投与は、蛋白質の投与や、それをコードする遺伝子の導入と発現によって達成できる。必要な遺伝子は、アデノウイルスベクターや、レトロウイルスベクターを用い、公知の方法に基づいて導入することができる。

本発明のポリヌクレオチドがコードする蛋白質は、組み換え蛋白質として、また天然の蛋白質として調製することが可能である。組み換え蛋白質は、例えば、後述するように本発明の蛋白質をコードするDNAを挿入したベクターを適当な宿主細胞に導入し、形質転換体内で発現した蛋白質を精製することにより調製することが可能である。また、インビトロトランスレーション（例えば、「On the fidelity of mRNA translation in the nuclease-treated rabbit reticulocyte lysate system. Dasso, M. C., Jackson, R. J. (1989) Nucleic Acids Res. 17:3129-3144」参照）などにより本発明の蛋白質を調製することも可能である。一方、天然の蛋白質は、例えば、後述する本発明の蛋白質に対する抗体を結合したアフィニティーカラムを利用して調製することができる（Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. Jhon Wiley & Sons

Section 16.1-16.19)。アフィニティー精製に用いる抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。

また、本発明には、表1に示した配列番号に記載されたアミノ酸配列からなる蛋白質のみならず、これらの蛋白質と機能的に同等な蛋白質をコードするポリヌクレオチドが含まれる。ここで「機能的に同等」とは、対象となる蛋白質が、胃癌の癌化または悪性化をもたらしていることを指し、このような場合、その蛋白質は本発明の蛋白質と機能的に同等であると言うことができる。

本発明において、ある遺伝子が癌化をもたらすことは、その遺伝子の形質転換による宿主細胞の癌化を観察することにより確認することができる。あるいは悪性化をもたらすことは、転移能を持たない癌細胞株にその遺伝子を形質転換転したときに、細胞が転移能を獲得することを指標として確認することができる。たとえば胃癌細胞株OCUM-2Mのように、転移能の低い、あるいは無い細胞株を、遺伝子の形質転換による悪性化の観察に利用することができる。

これら本実施例において同定された蛋白質と機能的に同等な蛋白質は、当業者であれば、例えば、蛋白質中のアミノ酸配列に変異を導入する方法（例えば、部位特異的変異誘発法(*Current Protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. Jhon Wiley & Sons Section 8.1-8.5)）を利用して調製することができる。また、このような蛋白質は、自然界におけるアミノ酸の変異により生じることもある。本発明には、このように本実施例において同定された蛋白質と同等の機能を有する限り、そのアミノ酸配列（表1の配列番号に記載）において1もしくは数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入および／もしくは付加などにより異なる蛋白質も含まれる。

蛋白質におけるアミノ酸の変異数や変異部位は、その機能が保持される限り制限はない。変異数は、典型的には、全アミノ酸の10%以内であり、好ましくは全アミノ酸の5%以内であり、さらに好ましくは全アミノ酸の1%以内である。置換されるアミノ酸は、蛋白質の機能の保持の観点から、置換前のアミノ酸と似た性

質を有するアミノ酸であることが好ましい。例えば、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Met、Phe、Trpは、共に非極性アミノ酸に分類されるため、互いに似た性質を有すると考えられる。また、非荷電性としては、Gly、Ser、Thr、Cys、Tyr、Asn、Glnが挙げられる。また、酸性アミノ酸としては、AspおよびGluが挙げられる。また、塩基性アミノ酸としては、Lys、Arg、Hisが挙げられる。

また、本実施例において同定された蛋白質と機能的に同等な蛋白質は、当業者に周知のハイブリダイゼーション技術あるいは遺伝子増幅技術を利用して単離することも可能である。即ち、当業者であれば、ハイブリダイゼーション技術 (Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. Jhon Wiley & Sons Section 6.3-6.4) を用いて本実施例において同定されたポリヌクレオチドの塩基配列（表1）またはその一部をもとにこれと相同性の高いポリヌクレオチドを単離して、該ポリヌクレオチドから機能的に同等な蛋白質を得ることは、通常行いうことである。本発明には、本実施例において同定された蛋白質と同等の機能を有する限り、これら蛋白質をコードするポリヌクレオチドとハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされる蛋白質も含まれる。機能的に同等な蛋白質を単離する生物としては、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、ウシ等の脊椎動物が挙げられるが、これらに制限されない。このような遺伝子は、その塩基配列において、高度な相同性を維持している。

機能的に同等な蛋白質をコードするポリヌクレオチドを単離するためのハイブリダイゼーションのストリンジエントな条件は、洗浄のための条件として通常「1xSSC、0.1% SDS、37°C」程度であり、より厳しい条件としては「0.5xSSC、0.1% SDS、42°C」程度であり、さらに厳しい条件としては「0.1xSSC、0.1% SDS、65°C」程度であり、ハイブリダイゼーションの条件が厳しくなるほどプローブ配列と高い相同性を有するポリヌクレオチドの単離を期待しうる。但し、上記SSC、SDSおよび温度の条件の組み合わせは例示であり、当業者であれば、ハイブリダイゼーションのストリンジエンシーを決定する上記若しくは他の要素（例えば、プロ-

ブ濃度、プロープの長さ、ハイブリダイゼーション反応時間など)を適宜組み合わせることにより、上記と同様のストリンジエンシーを実現することが可能である。

このようなハイブリダイゼーション技術を利用して単離される蛋白質は、表1に示した配列番号に記載の本発明の蛋白質と比較して、通常、そのアミノ酸配列において高い同一性を有する。高い同一性とは、少なくとも60%以上、好ましくは70%以上、さらに好ましくは80%以上(例えば、90%以上)の配列の同一性を指す。本発明におけるアミノ酸配列や塩基配列の同一性は、Karlin and AltschulによるアルゴリズムBLAST (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993)によって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている(Altschul et al. J. Mol. Biol. 215: 403-410, 1990)。BLASTに基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメーターはたとえばscore = 100, wordlength = 12とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターはたとえば score = 50, wordlength = 3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov.>)。

また、遺伝子增幅技術(PCR) (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 6.1-6.4)を用いて、本実施例において同定された塩基配列(表1)の一部をもとにプライマーを設計し、これら塩基配列またはその一部と相同性の高い塩基配列を含むポリヌクレオチド断片を単離して、これをもとに本実施例において同定された遺伝子によってコードされる蛋白質と機能的に同等な蛋白質を得ることも可能である。

また、機能的に同等な蛋白質をコードするポリヌクレオチドは、上記のようなハイブリダイゼーションやPCRを行う以外に、計算機上のホモロジー検索で単離することも可能である。本発明のタンパク質をコードするポリヌクレオチドとして

は、表1に示した塩基配列を含む遺伝子に対して種間で保存されている相同遺伝子、あるいはこれらと相同ではないが類似遺伝子であって、表1に示した配列番号に記載の本発明の蛋白質に対して高い相同意を有するものであってもよい。

本発明は、また、本発明の蛋白質の部分ペプチドを提供する。部分ペプチドは、本発明の蛋白質に対する抗体を得るために免疫原として有用である。特に、他の蛋白質との相同意が低い、本発明の蛋白質に固有のアミノ酸配列を含む部分ペプチドは、本発明の蛋白質に対して特異性の高い抗体を与える免疫原として期待される。

本発明の部分ペプチドは、少なくとも7アミノ酸、好ましくは9アミノ酸以上、より好ましくは12アミノ酸以上、より好ましくは15アミノ酸以上のアミノ酸配列からなる。本発明の部分ペプチドは、例えば、遺伝子工学的手法、公知のペプチド合成法、あるいは本発明の蛋白質を適当なペプチダーゼで切断することによって製造する。

また本発明は、前記ポリヌクレオチドのいずれかを含有する発現ベクターを提供するものである。本発明のベクターとしては、挿入したポリヌクレオチドを安定に保持するものであれば特に制限されず、例えば宿主に大腸菌を用いるのであれば、クローニング用ベクターとしてはpBluescriptベクター(Stratagene社製)などが好ましい。本発明のタンパク質を生産する目的においてベクターを用いる場合には、特に発現ベクターが有用である。発現ベクターとしては、試験管内、大腸菌内、培養細胞内、生物個体内でタンパク質を発現するベクターであれば特に制限されないが、例えば、試験管内発現であればpBESTベクター(プロメガ社製)、大腸菌であればpETベクター(Novagen社製)、培養細胞であればpME18S-FL3ベクター(GenBank Accession No. AB009864)、生物個体であればpME18Sベクター(Mol Cell Biol. 8:466~472(1988))などが好ましい。ベクターへの本発明のポリヌクレオチドの挿入は常法により制限酵素サイトを用いたリガーゼ反応により行うことができる(Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al.

(1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4~11.11)。

さらに、本発明は、前記ポリヌクレオチド、あるいは前記いずれかの発現ベクターを保持する形質転換体、並びにその形質転換体を培養し、その培養物から本発明の蛋白質を単離することからなる、本発明の蛋白質の製造方法に関するものである。本発明のベクターが導入される宿主細胞としては特に制限はなく、目的に応じて種々の宿主細胞が用いられる。タンパク質を高発現させるための真核細胞としては、例えば、COS細胞、CHO細胞などを例示することができる。

宿主細胞へのベクター導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法 (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 9.1-9.9)、リポフェクタミン法 (GIBCO-BRL 社製)、マイクロインジェクション法などの方法で行うことが可能である。本発明は、上記の方法で製造された蛋白質、あるいはその部分ペプチドを提供するものである。

本発明の実施に必要な、DNAのクローニング、各プラスミドの構築、宿主のトランسفエクション、形質転換体の培養および培養物からの蛋白質の回収等の操作は、当業者既知の方法、あるいは文献記載の方法 [Molecular Cloning, T. Maniatis et. al, CSH Laboratory (1983) DNA Cloning, DM. Glover, IRL PRESS (1985) 他] に準じて行なうことができる。

また、本発明の宿主細胞には、本発明の遺伝子の機能解析や、この遺伝子を利用したその機能阻害剤のスクリーニングのために用いる目的の細胞も含まれる。宿主細胞へのベクター導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法 (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 9.1-9.9)、リポフェクタミン法 (GIBCO-BRL 社製)、マイクロインジェクション法などの方法で行うことが可能である。形質転換体からの本発明の蛋白質の調製は、当業者に公知の蛋白質の分離・精製法を利用して行なうことができる。

本発明はまた、表1に示した配列番号に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖に相補的な少なくとも15ヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを提供する。ここで「相補鎖」とは、A:T、G:Cの塩基対からなる2本鎖ポリヌクレオチドの一方の鎖に対する他方の鎖を指す。また、「相補的」とは、少なくとも15個の連続したヌクレオチド領域で完全に相補配列である場合に限られず、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは90%、さらに好ましくは95%以上の塩基配列上の相同性を有すればよい。相同性を決定するためのアルゴリズムは本明細書に記載したものを使用すればよい。

このようなポリヌクレオチドは、本発明の蛋白質をコードするDNAやRNAを検出、単離するためのプローブとして、また、本発明のポリヌクレオチドを増幅するためのプライマーとして利用することが可能である。プライマーとして用いる場合には、通常、15bp～100bp、好ましくは15bp～35bpの鎖長を有するオリゴヌクレオチドが用いられる。また、プローブとして用いる場合には、本発明のポリヌクレオチドの少なくとも一部若しくは全部の配列を有し、少なくとも15bpの鎖長のポリヌクレオチドが用いられる。プライマーとして用いる場合、3'側の領域は相補的である必要があるが、5'側には制限酵素認識配列やタグなどを付加することができる。

本発明のポリヌクレオチドは、本発明の遺伝子の発現を検出、あるいは定量するするために利用することができる。例えば、本発明のポリヌクレオチドをプローブやプライマーとして用いたノーザンハイブリダイゼーションやRT-PCRにより、発現レベルを検査したり、本発明のポリヌクレオチドをプライマーとして用いたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によりゲノムDNA-PCRやRT-PCRにより本発明のDNAやその発現制御領域を増幅し、RFLP解析、SSCP、シークエンシング等の方法により、配列の異常を検査・診断することもできる。

また、「表1に示した配列番号に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖に相補的な少なくとも15ヌクレオチドを含むDNA」には、本発明の

遺伝子の発現を抑制するためのアンチセンスDNAが含まれる。アンチセンスDNAは、アンチセンス効果を引き起こすために、少なくとも15bp以上、好ましくは100bp、さらに好ましくは500bp以上の鎖長を有し、通常、3000bp以内、好ましくは2000bp以内の鎖長を有する。

このようなアンチセンスDNAには、胃癌の進行や転移の遺伝子治療に応用することができる。該アンチセンスDNAは、表1に示した配列番号に記載のDNAの配列情報を基にホスホロチオエート法 (Stein, 1988 Physicochemical properties of phosphorothioate oligodeoxynucleotides. Nucleic Acids Res 16, 3209-21 (1988)) などにより調製することが可能である。

本発明のポリヌクレオチドまたはアンチセンスDNAは、遺伝子治療に用いる場合には、例えば、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターなどのウイルスベクターやリポソームなどの非ウイルスベクターなどをを利用して、*ex vivo*法や*in vivo*法などにより患者へ投与を行う。

本発明は、また、本発明の蛋白質に結合する抗体を提供する。本発明の抗体の形態には特に制限はなく、ポリクローナル抗体やモノクローナル抗体または抗原結合性を有するそれらの一部も含まれる。また、全てのクラスの抗体が含まれる。さらに、本発明の抗体には、ヒト化抗体などの特殊抗体も含まれる。

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体の場合には、常法に従いアミノ酸配列に相当するオリゴペプチドを合成して家兎に免疫することにより得ることが可能であり (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.12~11.13) 、一方、モノクローナル抗体の場合には、常法に従い大腸菌で発現し精製した蛋白質を用いてマウスを免疫し、脾臓細胞と骨髄腫細胞を細胞融合させたハイブリドーマ細胞の中から得ることができる (Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4~11.11) 。

本発明の蛋白質に結合する抗体は、本発明の蛋白質の精製に加え、例えば、こ

これら蛋白質の発現異常や構造異常の検査・診断に利用することも考えられる。具体的には、例えば組織、血液、または細胞などから蛋白質を抽出し、ウェスタンブロッティング、免疫沈降、ELISA等の方法による本発明の蛋白質の検出を通して、癌の同定、あるいはその悪性度を検査・診断することができる。

たとえば、組織における本発明のポリヌクレオチドや、蛋白質、あるいはそれらの断片の存在は、その組織が胃癌に由来するものであることを示している。あるいは、血液における本発明のポリヌクレオチドや、蛋白質、あるいはそれらの断片の存在は、胃癌の指標とすることができます。本発明のポリヌクレオチドは、いずれも胃癌細胞で発現の増加が確認された遺伝子の塩基配列からなっている。したがって、本発明のポリヌクレオチドや蛋白質、あるいはそれらの断片を測定し、健常者の測定値と比較して増加している場合に、胃癌の存在が疑われる。胃癌の検出を可能とする本発明のポリヌクレオチドとしては、たとえばmRNAを挙げることができる。血液や細胞中のmRNAをRT-PCRなどの手法によって検出することにより、胃癌の指標とすることができます。あるいは本発明の蛋白質やその断片を、公知の免疫学的な手法によって検出することによって、胃癌の指標とすることができます。

本発明の蛋白質に結合する抗体は、胃癌の治療などの目的に利用することも考えられる。本発明の遺伝子によってコードされる蛋白質は、胃癌や、悪性度の高い胃癌において高度に発現している。したがって、この蛋白質を認識する抗体は、胃癌の免疫学的な治療に有用である。あるいは、この蛋白質を標的とする抗体に抗癌剤を結合させることにより、胃癌のミサイル療法を実現できる。抗体を患者の治療目的で用いる場合には、ヒト抗体またはヒト化抗体が免疫原性の少ない点で好ましい。ヒト抗体は、免疫系をヒトのものに入れ換えたマウス（例えば、「Functional transplant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibody response in mice, Mendez, M. J. et al. (1997) Nat. Genet. 15:146-156」参照）に免疫することにより調製することができる。また、ヒト化

抗体は、モノクローナル抗体の超可変領域を用いた遺伝子組み換えによって調製することができる(Methods in Enzymology 203, 99-121(1991))。

あるいは本発明は、本発明の蛋白質の活性を調節する化合物のスクリーニング方法を提供する。本発明の遺伝子が胃癌の癌化や悪性度に関連することから、当該遺伝子の産物の活性を抑制する化合物は胃癌やその転移を抑制する治療薬として有用である。このスクリーニング方法は、次の工程を含む。

- (a) 胃癌細胞に候補化合物を接触させる工程、
- (b) 表1に示す配列番号に記載の塩基配列からなる遺伝子の胃癌細胞における発現レベルを、対照と比較する工程、
- (c) 遺伝子の発現レベルを低下させる候補化合物を選択する工程、

本発明のスクリーニングに用いる胃癌細胞は、患者から採取された胃癌組織や、胃癌細胞株を用いることができる。あるいは、本発明の遺伝子を人為的に導入した細胞をスクリーニングの材料に用いることもできる。本発明のスクリーニング方法においては表1に示す配列番号に記載の塩基配列からなる遺伝子の発現レベルを指標とする。本発明の遺伝子は、胃癌の癌化や、転移に関連していることから、スクリーニングの目的に応じて、細胞の種類や指標とすべき遺伝子を選択することができる。たとえば、癌化の調節を目的とする場合には、胃癌において高度な発現が観察された遺伝子を指標とすることができる。あるいは、転移を制御することができる化合物のスクリーニングには、悪性度と関連する遺伝子を指標とする。遺伝子の発現レベルは、ノーザンプロット法やRT-PCR法などの公知の方法に基づいて検出し、あるいは定量することができる。

スクリーニングに用いる被検試料としては、例えば、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物、合成低分子化合物、合成ペプチド、天然化合物などが挙げられるが、これらに制限されない。また、本発明のタンパク質との結合活性を指標とした上記のスクリーニングにより単離された化合物を被検試料として用いることも可能である。

このスクリーニングにより単離される化合物は、本発明の遺伝子の発現阻害剤の候補となる。これら化合物は、本発明の遺伝子が関連する胃癌やその転移の予防薬や治療薬への応用が考えられる。

本発明のスクリーニング方法により単離された化合物を医薬品として用いる場合には、単離された化合物自体を直接患者に投与する以外に、公知の製剤学的方法により製剤化して投与を行うことも可能である。例えば、薬理学上許容される担体もしくは媒体、具体的には、滅菌水や生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁剤などと適宜組み合わせて製剤化して投与することが考えられる。患者への投与は、例えば、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射など当業者に公知の方法により行いうる。投与量は、患者の体重や年齢、投与方法などにより変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。また、該化合物がDNAによりコードされうるものであれば、該DNAを遺伝子治療用ベクターに組込み、遺伝子治療を行うことも考えられる。投与量、投与方法は、患者の体重や年齢、症状などにより変動するが、当業者であれば適宜選択することが可能である。

次に、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

発明を実施するための最良の形態

実施例 1. ディファレンシャル解析による発現レベルの比較

以下の細胞について発現レベルを解析し、正常部と癌部、癌部と転移病変の間で相互に比較して、発現レベルが5倍（または3倍）以上変化している遺伝子とハイブリダイズするプローブを選択した。括弧内の数字は試料番号を示す。

胃癌

胃癌組織：2例（#13および#18）

胃癌組織#13と同じ患者に由来するリンパ節転移組織：1例（#14）

胃癌組織#13と同じ患者に由来する正常胃粘膜：1例（#12）

胃癌細胞株OCUM-2M：1例

腹膜播種能の高い胃癌細胞株OCUM-2MD3：1例

ヌードマウス移植胃癌：2例（#5および#6）

正常胃粘膜の手術サンプル：1例（#3）

細胞株としては、大阪市立大学第1外科学教室において樹立された胃癌細胞株OCUM-2Mと高頻度に腹膜播種を引き起こす亜株であるOCUM-2MD3（Br. J Cancer 72:1200-1210, 1995）を用いた。以下のRNAの抽出と標識、そしてアレイとのハイブリダイズは、原則としてAffymetrix社の指示書に従って行った。

臨床検体、または10%牛胎児血清を含むD-MEM培地で培養した細胞株から、オリゴ(dT)セルローススピンカラム法（QuickPrep mRNA Purification kit, Pharmacia）によりPoly(A)⁺RNAを調製した。Poly(A)⁺RNA 1 μgを用いてT7付加オリゴ(dT)24をプライマーとして逆転写酵素（Superscript RT II, BRL）により1本鎖cDNAを合成し、さらにE. coli DNAリガーゼと E. coli DNAポリメラーゼを用いて2本鎖cDNAを合成した。合成したcDNAを定法に従いフェノール・クロロフォルム抽出した。この2本鎖cDNAを鋳型としてT7 RNAポリメラーゼによってcRNAを合成した。合成には、MEGAscript T7 kit (Ambion製) を用いた。このとき、標識ヌクレオチドとしてBiotin-11-CTPおよびBiotin-16-UTPを加え、cRNAを標識した。合成したcRNAをRNeasy Mini Kit (QUIAGEN製) によって回収し、SPIN-100 Columns (CLONETECH製) で精製した。精製cRNAは、加熱によって断片化後、cDNAオリゴヌクレオチドアレイ（Affymetrix社）とのハイブリダイゼーションに用いた。cRNAの断片化は、cRNA 20 μgを含むRNaseフリーの精製水 32 μLに対して、以下の断片化緩衝液を8 μL加え（cRNA最終濃度0.5 μg/μL）、94°Cで35分間処理することによって行った。この加熱処理により、cRNAはおよそ35-200bpの大きさに断片化される。

5×断片化緩衝液

4. 0 mL 1M トリス-酢酸緩衝液（pH 8.1）

0. 64g 酢酸マグネシウム

0. 98g 酢酸カルシウム

D E P C処理したH₂Oで20mLにする。

断片化したcRNAサンプルは、以下の組成からなるハイブリダイゼーションカクテルとし、一端99℃で5分間処理し、次いで45℃のヒートブロック上に5分間置いた。その200μLをアレイに加えて45℃で16時間ハイブリダイズさせた。ハイブリダイズに用いた5枚のアレイ、すなわちHuGeneFL（旧称Hu6800）には約6500種類の、そしてHu35K A、B、C、およびD上には、合わせておよそ35000種類の遺伝子あるいはESTに由来する塩基配列を持ったオリゴヌクレオチドが合成されている。なおハイブリダイゼーション以降の洗浄から蛍光染色にいたる工程には、GeneChip Fluidics Station 400（Affymetrix社製）を用いた。

ハイブリダイゼーションカクテル：

断片化cRNA 15 μg

コントロールオリゴヌクレオチドB2(5nM) 3 μL

100×コントロールcRNAカクテル 各3 μL

サケ精子DNA(10mg/mL) 3 μL

アセチル化BSA(50mg/mL) 3 μL

2×MESハイブリダイゼーション緩衝液 150 μL

total 300 μLに調整

ハイブリダイゼーション終了後、アレイからハイブリダイゼーションカクテルを除いて、250 μLの洗浄液を加えた。非特異的なシグナルを洗浄除去した後、フィコエリスリンーストレプトアビジン(streptavidin phycoerythrin; SAPE)を結合させた。さらにアビジンに対する抗体、そして再びフィコエリスリンーストレプトアビジンを用いて蛍光を増強した。洗浄液と蛍光染色に用いた反応液の組成は次のとおりである。

洗浄液：

8 3. 3 mL 1 2 ×MESストック緩衝液

5. 2 mL 5 M NaCl

1. 0 mL 1 0 % Tween20

9 1 0. 5 mL H₂O

蛍光染色用反応液：

3 0 0 μL 2 ×染色緩衝液

2 7 0 μL H₂O

2 4 μL 5 0 mg/mLアセチル化BSA

6 μL 1 mg/mL フィコエリスリンーストレプトアビジン

蛍光増強用抗ストレプトアビジン抗体（6 0 0 μL中）：

3 0 0 μL 2 ×染色緩衝液

2 4 μL 5 0 mg/mLアセチル化BSA

6. 0 μL 1 0 mg/mL正常ヤギIgG

3. 6 μL 0. 5 mg/mLビオチン化抗体

2 6 6. 4 μL H₂O

蛍光増強用フィコエリスリンーストレプトアビジン（1 2 0 0 μL中）：

6 0 0 μL 2 ×染色緩衝液

4 8 μL 5 0 mg/mLアセチル化BSA

1 2 μL 1 mg/mL フィコエリスリンーストレプトアビジン

5 4 0 μL H₂O

蛍光染色した各アレイの蛍光強度を、共焦点レーザー装置（HP Genearrayスキヤナー）により測定した。5つのアレイ上の遺伝子あるいはESTについて、2つの細胞由来のRNAの間で蛍光強度（average difference）すなわち遺伝子発現強度を比較し、その比（fold change）を算出した。そして、少なくとも1つの対照試料に比べ5倍、または2つの対照試料双方に対して3倍以上の増加あるいは減少が確認されたものを選択した（表2）。

表2. 選択された遺伝子の発現プロフィール

AA147884	-6	~5.9	(13)145	~11.2	11	zI50b04.s1 Soares pregnant uterus NbHPU Homo sapiens cDNA clone 505327 3 .
AA147884	-6	~5.0	(18)116	~7.0	11	zI50b04.s1 Soares pregnant uterus NbHPU Homo sapiens cDNA clone 505327 3 .
AA235118 5b 5a 5c AA235118	459	7.9	(5)2545	6	323	C-MAMMA1002461 zs36f07.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 687301 3 similar to contains element MSR1 repetitive element ;.
AA242823 13b 13a 13c						C-NT2RP2002193
AA242823	-313	~14.1	(13)7	~8.8	-34	zr65e10.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 668298 3 .
AA255525 13b 13c AA255525	66	3.9	(13)214	~7.9	-87	C-THYRO1000401 zr85a12.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 682462 3 .
AA258267 5c AA258267	10	~3.0	(5)66	~3.5	1	C-NT2RP3004041 zr60h08.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 667839 3 .
AA281528 13b 13a 13c						C-OVARC1000781
AA281528	-91	~12.5	(13)225	~9.5	-18	zt08g09.s1 NCI_CGAP_GCB1 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:712576 3 .
AA292158 13a 18a 13c						C-PLACE4000052
AA292158	2	~10.0	(13)319	3.3	97	zt46c03.r1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 725380 5 .
AA292158	2	~7.8	(18)112			zt46c03.r1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 725380 5 .
AA323430 18b AA323430			(18)114	~6.2	-6	C-NT2RP3002948 EST26202 Cerebellum II Homo sapiens cDNA 5' end similar to similar to ring canal protein.
AA378597 13a AA378597	-246	~27.4	(13)559			C-PLACE1001845, EST91316 Synovial sarcoma Homo sapiens cDNA 5' end.
AA379742 5a AA379742	-53	~8.0	(5)147			C-NT2RM2001637 EST92623 Skin tumor I Homo sapiens cDNA 5 end.
AA398596 13b 5b 1 3a 5a 13c 5c S						C-PLACE1006469
AA398596	48	~13.3	(5)380	5.1	75	zt70a05.s1 Soares testis NHT Homo sapiens cDNA clone 727664 3 .
AA398596	48	~7.9	(13)153	~10.0	75	zt70a05.s1 Soares testis NHT Homo sapiens cDNA clone 727664 3 .
AA399226 5b AA399226			(5)170	~7.4	-1	C-HEMBA1002417 zt50c01.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 725760 3 .
AA402715 14 18a AA402715	539	7.3	(18)3949			C-PLACE1000786 zu47c06.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo

					sapiens cDNA clone 741130 3'
AA402823	13b 18b		(13)146	~7.2 -125	C-MAMMA1000416 zu55g07.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 741948 3'
AA402823			(18)287	~8.7 -125	zu55g07.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 741948 3'
AA410311	18a	-138	~25.7	(18)615	C-PLACE1005409 zv23c07.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 754476 3'
AA410311					
AA410343	5a	-1797	~29.7	(5)63	C-HEMBB1002600 zv16e11.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 753836 3'
AA410343					
AA422049	18a	25	7.3	(18)200	C-NT2RP3000605 zv28g05.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 755000 3' similar to gb:J02621 NONHISTONE CHROMOSOMAL PROTEIN HMG-14 (HUMAN):
AA422049					
AA426218	13b 5b		(5)257	~8.5 12	C-NT2RM4002390 zw17c11.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 769556 3'
AA426218					
AA426218			(13)157	~5.4 12	zw17c11.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 769556 3'
AA427861	13b 18b 13a 18a 1 3c 18c				C-HEMBA1004055
AA427861		68	10	(13)253	zw50b01.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 773449 3'
AA427861					
AA427861		68	5.2	(18)295	zw50b01.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 773449 3'
AA427861					
AA429917	13b		(13)444	~21.5 -25	C-PLACE1005603 zw66f03.s1 Soares testis NHT Homo sapiens cDNA clone 781181 3'
AA429917					
AA430355	18a 18c	151	7.6	(18)1227	C-HEMBA1002150 zw20e04.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 769854 3'
AA430355					
AA430674	13a 5a	-45	~19.5	(5)518	C-Y79AA1000258 zw26d12.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 770423 3'
AA430674					
AA430674		-45	~12.2	(13)297	zw26d12.s1 Soares ovary tumor NbHOT Homo sapiens cDNA clone 770423 3'
AA430674					
AA433899	13b		(13)141	~12.9 -47	C-NT2RM1001105 zw52b06.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 773651 3'
AA433899					
AA445994	5a	4	~6.5	(5)153	C-NT2RM4000027 zw64e04.s1 Soares testis
AA445994					

						NHT Homo sapiens cDNA clone 780990 3 .	
AA449773	14 5a	86	9.2	(5)786		C-MAMMA1002143 zx07h07.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 785821 3 .	
AA449773							
AA449773					77	13.1 978 zx07h07.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 785821 3 .	
AA453435	18a	94	6.4	(18)1292		C-PLACE1006037 zx32h03.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 788213 3 .	
AA453435							
AA453624	5b 5c	89	3.4	(5)288	6.1	41	C-NT2RP4000973 zx48c02.s1 Soares testis NHT Homo sapiens cDNA clone 795458 3 similar to gb:M11722 DNA NUCLEOTIDYLEXOTRAN SFERASE (HUMAN). .
AA453624							
AA460708	13b 13c	84	3	(13)231	7	33	C-OVARC1001270 zx69e03.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 796732 3 .
AA460708							
AA461093	18b 13a 18a 13c 1 8c	-68	~5.6	(13)47	~3.6	-5	C-HEMBB1001482 zx63f06.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 796163 3 .
AA461093							
AA461093		-68	~8.6	(18)141	~6.5	-5	zx63f06.s1 Soares total fetus Nb2HF8 9w Homo sapiens cDNA clone 796163 3 .
AA465367	5a	-8	~6.4	(5)182			C-NT2RP2005360 aa23d09.s1 NCI CGAP GCB1 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:814097 3 .
AA465367							
AA478794	13b 13c	-9	~4.5	(13)91	~7.2	1	C-MAMMA1000416 zv20e01.s1 Soares NhHMPu S1 Homo sapiens cDNA clone 754200 3 .
AA478794							
AA489000	13a	27	~5.3	(13)110			C-PLACE1000133 C-NT2RP2004013 aa54d02.s1 NCI CGAP GCB1 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:824739 3 .
AA489000							
AA489080	5a 5c	86	5.3	(5)455	4.5	100	C-HEMBA1003615 aa54h08.s1 NCI CGAP GCB1 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:824799 3 .
AA489080							
AA598982	18b			(18)246	~10.0	-50	C-PLACE3000242 ae34e01.s1 Gessler Wilms tumor Homo sapiens cDNA clone 897720 3 similar to contains element PTR5 repetitive element ..
AA598982							
AA599674	5b 5a 5 c						C-NT2RM2000522 C-HEMBA1002475 C-NT2RP2004242
AA599674							ag10e11.s1 Gessler Wilms tumor Homo sapiens cDNA clone 1069964 3 .
AA620295	5a 5c	-18	~8.7	(5)750	12.7	59	C-NT2RM2001637 af04h10.s1 Soares testis
AA620295							

						NHT Homo sapiens cDNA clone 1030723 3 .	
C02472	5a					C-Y79AA1000784	
C02472		35	11	(5)454		C-NT2RM4001382	
H49440	13a					HUMGS0012359, Human Gene Signature, 3 - directed cDNA sequence.	
H49440		56	~11.3	(13)195		C-NT2RP3003290	
H61476	5b 5c					yo23d12.r1 Homo sapiens cDNA clone 178775 5 similar to contains Alu repetitive element;contains PTR7 repetitive element .	
H61476		62	~4.5	(5)439	~11.1	55	C-HEMBA1004889 yr17e08.s1 Homo sapiens cDNA clone 205574 3 .
N22273	13a 5a					C-HEMBA1006676 (HELIX) 2869 bp C- NT2RM2001696 (HELIX) 2661 bp	
N22273		0	~5.5	(5)238			
N22273		0	~5.7	(13)184			
N30796	5c					C-NT2RM4002593 yw65d03.s1 Homo sapiens cDNA clone 257093 3 .	
N30796		66	~4.6	(5)573	3.3	142	
N31610	5c					C-Y79AA1001781 yy20g10.s1 Homo sapiens cDNA clone 271842 3 .	
N31610		-211	~3.5	(5)73	~3.4	-10	
N39361	5b 5c					C-HEMBA1003805 yx80d09.r1 Homo sapiens cDNA clone 268049 5 .	
N39361		156	3.1	(5)109	~5.9	-72	
N40170	5b					C-NT2RP2002606	
N40170				(5)130	~5.2	-5	C-NT2RP3003876
N73762	13b					yy44b06.s1 Homo sapiens cDNA clone 276371 3 .	
N73762				(13)842	6	150	C-HEMBA1007085 za61f08.s1 Homo sapiens cDNA clone 297063 3 .
N78718	13a					C-NT2RP3000109	
N78718		51	5.2	(13)280		zb02f10.s1 Homo sapiens cDNA clone 300907 3 .	
R05274	18b					C-PLACE1004506	
R05274				(18)734	5.7	118	ye91b06.s1 Homo sapiens cDNA clone 125075 3 .
R06271	18a 18c					C-PLACE1005409	
R06271		79	7.9	(18)881	4.1	180	yf08e02.s1 Homo sapiens cDNA clone 126266 3 .
R31785	5b 5a 5c					C-OVARC1001726	
R31785		-913	~15.1	(5)911	~33.3	-555	yh68g11.s1 Homo sapiens cDNA clone 134948 3 .
R44761	13a					C-NT2RP2003272	
R44761		19	~6.3	(13)471		yg30h03.s1 Homo sapiens cDNA clone 34148 3 similar to contains MER28 repetitive element .	
R54743	13b 5b					C-HEMBA1005621	
R54743				(5)492	13.5	36	yi75a07.r1 Homo sapiens cDNA clone 154548 5 .
R54743				(13)209	5.8	36	yi75a07.r1 Homo sapiens cDNA clone 154548 5 .
R56678	13b					C-NT2RP3002399	
R56678				(13)85	~5.5	15	yi04d08.r1 Homo sapiens cDNA clone 138255 5 similar to contains Alu repetitive element .
T10166	13c					C-NT2RM2000101	
T10166		61	4.1	(13)249	4.2	94	C-NT2RP2002208
T33018	18a 5a					seq879 Homo sapiens cDNA clone b4HB3MA-COT8-HAP-Ft166 3 .	
T33018		-263	~10.6	(5)407		C-NT2RM4000514	
						EST56331 Homo sapiens	

T33018		-263	~6.1	(18)221	cDNA 3' end similar to None. EST56331 Homo sapiens cDNA 3' end similar to None.
T47788	5a	-192	~6.6	(5)260	C-NT2RM1000039 yb17a11.s1 Homo sapiens cDNA clone 71420 3.
T64575	5a	254	6.3	(5)1387	C-MAMMA1001388 yc25a03.s1 Homo sapiens cDNA clone 81676 3.
T71373	5b 5a 5c	-545	~20.3	(5)251 ~43.6 -775	C-MAMMA1001388 yc61h07.s1 Homo sapiens cDNA clone 85213 3.
T90699	18b 18c	-93	~3.7	(18)234 ~6.1 24	C-NT2RP3002273 C-MAMMA1000284 ye16d10.s1 Homo sapiens cDNA clone 117907 3 similar to contains PTR5 repetitive element .
T95057	13b 5b			(5)408 ~5.4 25	C-HEMBA1007085 ye39d04.s1 Homo sapiens cDNA clone 120103 3.
T95057				(13)847 16.8 25	ye39d04.s1 Homo sapiens cDNA clone 120103 3.
T97111	5b			(5)229 8.2 -38	C-NT2RM2001345 ye41d04.r1 Homo sapiens cDNA clone 120295 5.
T99474	5c	-9	~3.0	(5)223 3.2 70	C-NT2RP2000289 ye64d12.s1 Homo sapiens cDNA clone 122519 3.
W27237	14				C-MAMMA1002143 W27237 31 12.1 444 24c11 Human retina cDNA randomly primed sublibrary Homo sapiens cDNA.
W68734	5b 5a 5c	-234	~6.6	(5)319 ~11.3 -7	C-NT2RM4001155 zd37f08.s1 Soares fetal heart NbHH19W Homo sapiens cDNA clone 342855 3.
W72547	13a	36	6.2	(13)220	C-HEMBA1004669 zd64g12.s1 Soares fetal heart NbHH19W Homo sapiens cDNA clone 345478 3.
W86853	5b 5c	20	~3.8	(5)98 ~5.6 -34	C-NT2RP3002818 zh59d05.s1 Soares fetal liver spleen 1NFLS S1 Homo sapiens cDNA clone 416361 3.
Z38501	13b 18b			(13)144 ~5.8 29	C-NT2RP3001730 H. sapiens partial cDNA sequence; clone c-0de11.
Z38501				(18)141 ~5.7 29	H. sapiens partial cDNA sequence; clone c-0de11.

表中、選出法に「5」と記されているものはSCIDマウスに移植した胃癌組織(#5)を用いた発現解析で同定された遺伝子を示しており、「13」および「18」と記されているものは胃癌臨床検体 (#13 および #18) を用いた発現解析で同定された遺伝子を示している。これら3つの癌部に対し、正常部臨床検体 #3 および #12 (#12は#13と同一標本) の2つから発現の上昇を示した。「a」は正常部臨床検体

#3 に対して発現の上昇 (fold change) が5倍以上であることを示し、「b」は正常部臨床検体 #12 に対して発現の上昇 (fold change) が5倍以上であることを示す。「c」は、正常部臨床検体 #3 対して発現の上昇 (fold change) が3倍以上、かつ正常部臨床検体 #12 に対しても発現の上昇が3倍以上であることを示す。

「14」は、胃癌臨床検体#13のリンパ節転移を用いた発現解析で同定された遺伝子を示しており、#13に対して「fold change」が5倍以上上昇する遺伝子を表す。各試料における発現量 (average difference) (表中の「5or13or18」の欄では、括弧内に検体番号を示す) および fold change (表中、比較した2つの検体を「fold →」または「←fold」で示す) も、表中に示した。

この実験とは別に、肝癌においても同様の実験を試みた。すなわち、B型肝炎ウイルス感染患者（検体番号#5）由来の肝癌組織と、同じ患者に由来する非癌（肝硬変）組織を用いて、上記と同様のディファレンシャル解析による発現レベルの比較を行ったところ、上記 MAMMA1000416 の発現 (average difference) は、非癌（肝硬変）組織においては「55」、肝癌組織においては「569」であった。すなわち、非癌（肝硬変）組織との比 (fold change) は ~4.8 となり、MAMMA1000416 の発現は肝癌においても上昇することが判明した。

2. 全長cDNAデータベース

ヒト胎児精巣由来のテラトカルシノーマ細胞でレチノイン酸処理により神経細胞に分化可能なNT-2神経前駆細胞 (Stratagene社より購入) を、添付のマニュアルにしたがって次のように処理したものを用いた。

- (1) NT-2細胞をレチノイン酸で誘導しないで培養 (NT2RM1, NT2RM2, NT2RM4) 、
- (2) NT-2細胞を培養後、レチノイン酸を添加して誘導後、2週間培養 (NT2RP2, NT2RP3, NT2RP4) 。

また、ヒトretinoblastoma培養細胞Y79 (ATCC HTB-18) (Y79AA1) をATCCカタログ(<http://www.atcc.org/>)記載の培養条件で培養した。培養細胞を集めて、文

献(J. Sambrook, E. F. Fritsch & T. Maniatis, Molecular Cloning Second edition, Cold Spring harbor Laboratory Press 1989) 記載の方法によりmRNAを抽出した。さらに、オリゴdTセルロースでpoly(A)⁺ RNAを精製した。

同様に、ヒト胎盤組織 (PLACE1, PLACE3, PLACE4) 、ヒト卵巣癌組織 (OVARC1) 、ヒト10週令胎児より頭部を多く含む組織 (HEMBA1) 、ヒト10週令胎児より胴体部分を多く含む組織 (HEMBB1) 、ヒト乳腺組織 (MAMMA1) 、ヒト甲状腺組織 (THYR01) より、文献 (J. Sambrook, E. F. Fritsch & T. Maniatis, Molecular Cloning Second edition, Cold Spring harbor Laboratory Press, 1989) 記載の方法によりmRNAを抽出した。さらに、オリゴdTセルロースでpoly(A)⁺ RNAを精製した。

それぞれのpoly(A)⁺ RNAよりオリゴキャップ法 [M. Maruyama and S. Sugano, Gene, 138: 171-174 (1994)]によりcDNAライブラリーを作成した。Oligo-cap linker (agcaucgagu cggccuuguu ggccuacugg／配列番号：150) およびOligo dT primer (gcggctgaag acggcctatg tggccttttt tttttttt tt／配列番号：151) を用いて文献 [鈴木・菅野, 蛋白質 核酸 酵素, 41: 197-201 (1996)、 Y. Suzuki et al., Gene, 200: 149-156 (1997)]に書いてあるようにBAP (Bacterial Alkaline Phosphatase) 処理、TAP (Tobacco Acid Phosphatase) 処理、RNAライゲーション、第一鎖cDNAの合成とRNAの除去を行った。次いで、5' (agcatcgagt cggccttgtt g／配列番号：152) と3' (gcggctgaag acggcctatg t／配列番号：153) のPCRプライマーを用いPCR (polymerase chain reaction) により2本鎖cDNAに変換し、SfiI切断した。次いで、DraIIIで切断したベクターpUC19FL3 (NT2RM1) またはpME18SFL3 (GenBank AB009864, Expression vector) (NT2RM2, NT2RM4, NT2RP2, NT2RP3, NT2RP4, Y79AA1, PLACE1, PLACE3, PLACE4, OVARC1, HEMBA1, HEMBB1, MAMMA1, THYR01) にcDNAの方向性を決めてクローニングし、cDNAライブラリーを作成した。これらより得たクローンのプラスミドDNAについて、cDNAの5' 端または3' 端の塩基配列をDNAシーケンシング試薬 (Dye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit, dRhodamine Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction

KitまたはBigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit, PE Biosystems社製)を用い、マニュアルに従ってシーケンシング反応後、DNAシーケンサー(ABI PRISM 377, PE Biosystems社製)でDNA塩基配列を解析した。得られたデータをデータベース化した。

NT2RM1以外のオリゴキャップ高全長率cDNAライブラリーは、真核細胞での発現が可能な発現ベクターpME18SFL3を用いて作製した。pME18SFL3にはクローニング部位の上流にSR α プロモーターとSV40 small tイントロンが組み込まれており、またその下流にはSV40ポリA付加シグナル配列が挿入されている。pME18SFL3のクローン化部位は非対称性のDraIIIサイトとなっており、cDNA断片の末端にはこれと相補的なSfiI部位を付加しているので、クローン化したcDNA断片はSR α プロモーターの下流に一方向性に挿入される。したがって、全長cDNAを含むクローンでは、得られたプラスミドをそのままCOS細胞に導入することにより、一過的に遺伝子を発現させることが可能である。すなわち、非常に容易に、遺伝子産物である蛋白質として、あるいはそれらの生物学的活性として実験的に解析することが可能となっている。

決定された5'側の塩基配列に基づいて、各クローンの全長性を評価した。全長性は、ATGprやESTiMateFLによる解析結果等を利用して評価した。ATGprは、ATGコドンの周辺の配列の特徴から翻訳開始コドンであるかどうかを予測するためにヘリックス研究所のA. A. Salamov, T. Nishikawa, M. B. Swindellsにより開発されたプログラムである。またESTiMateFLは、公共データベース中のESTの5'-末端配列や3'-末端配列との比較による全長cDNAの可能性の高いクローンを選択するヘリックス研究所の西川・太田らにより開発された方法である。

全長性の評価によって全長である可能性が高いクローンを選択した。更にその中から、5'側と3'側の塩基配列について公共データベースを検索し、新規であると判断されるクローンを選抜した。

選抜したクローンについて各々全長cDNAの塩基配列を決定した。塩基配列は主

に、カスタム合成DNAプライマーを用いたダイデオキシターミネーター法によるプライマーウォーキング（カスタム合成DNAプライマーを用い、PE Biosystem社製のDNAシーケンシング試薬でマニュアルに従ってシーケンシング反応後、同社製のシーケンサーでDNA塩基配列を解析）によって決定した。一部のクローンについては同様の方法でLicor 社製DNAシーケンサーを用いて塩基配列を決定した。全長塩基配列は上記方法により決定された部分塩基配列を完全にオーバーラップさせ最終的に確定した。次に、決定された全長塩基配列から、推定アミノ酸配列を求めた。こうして明らかにされた全長塩基配列と推定アミノ酸配列をデータベース化し、全長cDNAデータベースとした。

3. DD法で選択した塩基配列との照合

2の全長cDNAデータベースに対して、1で選択した76クローンの配列は、公知の塩基配列に同一のものがなく（すなわち新規）、しかも全長cDNAクローンと判定されたcDNAクローンと同一の塩基配列からなっていることが判明した。塩基配列が一致した全長cDNAクローンの塩基配列と対応するアミノ酸配列の配列番号を表1に示した。

最終的に、正常胃粘膜 (#3または#12) に比べ、胃癌組織 (#13または#18) において5倍以上発現が増加、あるいは、正常胃粘膜#3および#12双方に対して3倍以上増加する遺伝子として、表2の選出法に「13a」(#13で#3の5倍以上)、「13b」(#13で#12の5倍以上)、「13c」(#13で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上)、「18a」(#18で#3の5倍以上)、「18b」(#18で#12の5倍以上)、または「18c」(#18で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上)と記載された配列で示される遺伝子が選択された。これらの遺伝子は、以下のものが含まれる：HEMBB1001294、NT2RP2001327、NT2RP2000459、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1002716、NT2RP2002193、THYR01000401、OVARC1000781、PLACE4000052、NT2RP3002948、PLACE1001845、PLACE1006469、PLACE1000786、MAMMA1000416、PLACE1005409、NT2RP3000605、

NT2RM4002390、HEMBA1004055、PLACE1005603、HEMBA1002150、Y79AA1000258、NT2RM1001105、PLACE1006037、OVARC1001270、HEMBB1001482、MAMMA1000416、PLACE1000133、NT2RP2004013、PLACE3000242、NT2RP3003290、HEMBA1006676、NT2RM2001696、HEMBA1007085、NT2RP3000109、PLACE1004506、PLACE1005409、NT2RP2003272、HEMBA1005621、NT2RP3002399、NT2RM2000101、NT2RP2002208、NT2RM4000514、NT2RP3002273、MAMMA1000284、HEMBA1007085、HEMBA1004669、および NT2RP3001730。

また、胃癌組織#13に比べ、リンパ節転移巣の癌組織#14において5倍以上発現が増加する遺伝子として、表2の選出法に「14」と記載された配列で示される遺伝子が選択された。これらの遺伝子は以下のものが含まれる：NT2RP2001420、PLACE1000786、および MAMMA1002143。

あるいは、胃癌細胞株OCUM-2Mに比べ、腹膜播種能の高い胃癌細胞株OCUM-2MD3で5倍以上発現が上昇する遺伝子として以下のものが選択された：
MAMMA1001388

更に、正常切除胃粘膜細胞（#3または#12）に比べ、ヌード（SCID）マウス移植胃癌#5で5倍以上発現が上昇、あるいは、正常胃粘膜#3および#12双方に対して3倍以上上昇する遺伝子として、表2の選出法に「5a」（#5で#3の5倍以上）、「5b」（#5で#12の5倍以上）、「5c」（#5で#3の3倍以上かつ#12の3倍以上）と記載された配列で示される遺伝子が選択された。これらの遺伝子は以下のものが含まれる：MAMMA1002351、NT2RP2001327、NT2RM1000355、Y79AA1000784、NT2RM4001382、NT2RM1000055、PLACE1008947、MAMMA1002461、NT2RP3004041、NT2RM2001637、PLACE1006469、HEMBA1002417、HEMBB1002600、NT2RM4002390、Y79AA1000258、NT2RM4000027、MAMMA1002143、NT2RP4000973、NT2RP2005360、HEMBA1003615、NT2RM2000522、HEMBA1002475、NT2RP2004242、NT2RM2001637、Y79AA1000784、NT2RM4001382、HEMBA1004889、HEMBA1006676、NT2RM2001696、NT2RM4002593、Y79AA1001781、HEMBA1003805、NT2RP2002606、NT2RP3003876、OVARC1001726、

HEMBA1005621、NT2RM4000514、NT2RM1000039、MAMMA1001388、MAMMA1001388、
HEMBA1007085、NT2RM2001345、NT2RP2000289、NT2RM4001155、および NT2RP3002818。

4. 選択されたクローンの特性

これらのクローンについてATGprによる全長性の評価結果を以下に示す。ATGprは、ATGコドンの周辺の配列の特徴から翻訳開始コドンであるかどうかを予測するためにヘリックス研究所のA. A. Salamov, T. Nishikawa, M. B. Swindellsにより開発されたプログラムである [A. A. Salamov, T. Nishikawa, M. B. Swindells, Bioinformatics, 14: 384–390 (1998); <http://www.hri.co.jp/atgpr/>]。結果は、そのATGが真の開始コドンである期待値（以下ATGpr1と記載することもある）で表した。

HEMBA1002150 0.31

HEMBA1002417 0.83

HEMBA1002475 0.88

HEMBA1002716 0.14

HEMBA1003615 0.94

HEMBA1003805 0.94

HEMBA1004055 0.74

HEMBA1004669 0.94

HEMBA1004889 0.94

HEMBA1005621 0.94

HEMBA1006676 0.17

HEMBA1007085 0.73

HEMBB1001294 0.86

HEMBB1001482 0.44

HEMBB1002600 0.91

MAMMA1000284 0.35
MAMMA1000416 0.89
MAMMA1001388 0.94
MAMMA1002143 0.91
MAMMA1002351 0.89
MAMMA1002461 0.49
NT2RM1000039 0.77
NT2RM1000055 0.89
NT2RM1000355 0.94
NT2RM1001105 0.94
NT2RM2000101 0.77
NT2RM2000522 0.91
NT2RM2001345 0.94
NT2RM2001637 0.71
NT2RM2001696 0.94
NT2RM4000027 0.40
NT2RM4000514 0.72
NT2RM4001155 0.94
NT2RM4001382 0.93
NT2RM4002390 0.18 (最大ATGpr2値は 0.24)
NT2RM4002593 0.91
NT2RP2000289 0.06 (最大ATGpr2値は 0.35)
NT2RP2000459 0.12
NT2RP2001327 0.86
NT2RP2001420 0.88
NT2RP2002193 0.48

NT2RP2002208 0.49
NT2RP2002606 0.11
NT2RP2003272 0.94
NT2RP2004013 0.48
NT2RP2004242 0.94
NT2RP2005360 0.12
NT2RP3000109 0.18
NT2RP3000605 0.92
NT2RP3001730 0.77
NT2RP3002273 0.90
NT2RP3002399 0.91
NT2RP3002818 0.91
NT2RP3002948 0.60
NT2RP3003290 0.62
NT2RP3003876 0.42
NT2RP3004041 0.52
NT2RP4000973 0.36
OVARC1000781 0.80
OVARC1001270 0.48
OVARC1001726 0.18
PLACE1000133 0.53
PLACE1000786 0.88
PLACE1001845 0.08
PLACE1004506
PLACE1005409 0.09
PLACE1005603 0.92

PLACE1006037	0.65
PLACE1006469	0.85
PLACE1008947	0.05
PLACE3000242	0.94
PLACE4000052	0.80
THYR01000401	0.73
Y79AA1000258	0.36
Y79AA1000784	0.93
Y79AA1001781	0.74

次にこれらのクローンの全長塩基配列から推定されたアミノ酸配列に対して、アミノ末端のシグナル配列の有無と膜貫通領域の有無を予測、さらに蛋白質の機能ドメイン(モチーフ)検索を行った。アミノ末端のシグナル配列についてはPSORT [K. Nakai & M. Kanehisa, Genomics, 14: 897-911 (1992)]を、膜貫通領域についてはSOSUI [T. Hirokawa et. al. Bioinformatics, 14: 378-379 (1998)] (三井情報開発株式会社販売)を用いて解析を行った。機能ドメインの検索についてはPfam (<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml>) を用いた。PSORTやSOSUIにより、アミノ末端のシグナル配列や膜貫通領域が予測されたアミノ酸配列は分泌、膜蛋白質であると予測された。また、Pfamによる機能ドメイン検索において、ある機能ドメインにヒットしたアミノ酸配列はヒットデータをもとに、例えばPROSITE (<http://www.expasy.ch/cgi-bin/prosite-list.pl>) にある機能カテゴリー一分類を参照にしてその蛋白質の機能予測することができる。また、PROSITEでの機能ドメインの検索も可能である。

その結果、Y79AA1000258は、PSORTにより推定アミノ酸配列にシグナル配列を検出された。また、HEMBA1002150、HEMBA1004889、HEMBB1002600、MAMMA1000416、MAMMA1001388、MAMMA1002461、NT2RM1000355、NT2RP2000289、NT2RP2000459、

NT2RP4000973、PLACE4000052、HEMBA1004055、およびY79AA1000258 は、SOSUIにより推定アミノ酸配列に膜貫通領域が検出された。

各クローンの全長塩基配列および推定アミノ酸配列に基づく公知の遺伝子データベースに対する相同性検索結果を以下に示す。各データは、配列名、最も類似性が高かったヒットデータのDefinition、P値、比較配列の長さ、相同性、ヒットデータのAccession No. の順に//で区切って記載した。ここでP値とは、配列間の類似性を統計的に起こりうる確率を考慮してスコアで示したもので、一般に値が小さいと類似性が高い(Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W. & States, D.J. (1993) "Identification of protein coding regions by database similarity search." Nature Genet. 3:266-272)。

HEMBA1002417//"Homo sapiens chromosome 19, cosmid R28784, complete sequence."//1.4E-299//294bp//100%//AC005954

HEMBA1002417//TIGHT JUNCTION PROTEIN ZO-1 (TIGHT JUNCTION PROTEIN 1).//1.00E-121//489aa//52%//P39447

HEMBA1002475//SKIN SECRETORY PROTEIN XP2 PRECURSOR (APEG PROTEIN).//1.10E-12//285aa//31%//P17437

HEMBA1003615//Homo sapiens ART-4 mRNA, complete cds.//0//1713bp//99%//AB026125

HEMBA1003805//Mus musculus KH domain RNA binding protein QKI-5A mRNA, complete cds.//0//988bp//95%//AF090402

HEMBA1004669//SON PROTEIN (SON3).//7.30E-17//288aa//36%//P18583

HEMBA1004889//Human C3f mRNA, complete cds.//6.70E-24//341aabp//26%//U72515

HEMBA1005621//"Homo sapiens Mad2B protein (MAD2B) mRNA, complete

cds."//2.9E-224//1031bp//99%//AF139365

HEMBA1005621//Homo sapiens Mad2-like protein mRNA, complete cds.//8.00E-211//962bp//99%//AF072933

HEMBB1001294//GTP-BINDING PROTEIN TC10.//1.20E-79//196aa//80%//P17081

HEMBB1001482//ZINC FINGER PROTEIN 91 (ZINC FINGER PROTEIN HTF10) (HPF7).//2.10E-57//941aa//27%//Q05481

HEMBB1002600//Homo sapiens tetraspan NET-5 mRNA, complete cds.//0//1417bp//99%//AF089749

MAMMA1000284//P.walti mRNA for rnp associated protein 55.//2.20E-109//864bp//76%//X99836

MAMMA1000416//HYPOTHETICAL 32.0 KD PROTEIN C09F5.2 IN CHROMOSOME III.//2.00E-30//119aa//53%//Q09232

MAMMA1001388//LEUCINE-RICH ALPHA-2-GLYCOPROTEIN (LRG).//1.40E-165//312aa//99%//P02750

MAMMA1002143//Homo sapiens Cdc42 effector protein 4 mRNA, complete cds.//1.70E-252//1170bp//99%//AF099664

MAMMA1002351//FERRIPYOCHELIN BINDING PROTEIN.//0.000078//127aa//26%//P40882

MAMMA1002351//Mus musculus dynactin subunit p25 (p25) mRNA, complete cds.//4.30E-119//773bp//86%//AF190795

NT2RM1000039//HYPOTHETICAL 41.4 KD PROTEIN IN SRLQ-HYPF INTERGENIC REGION (EC 1.18.1.-) (ORF4) (ORF2).//2.90E-14//299aa//25%//P37596

NT2RM1000055//Homo sapiens mRNA for KIAA0829 protein, partial cds."//0//3111bp//99%//AB020636

NT2RM1000055//Rattus norvegicus mRNA for TIP120, complete cds.//0//3106bp//89%//D87671

NT2RM1000355//Homo sapiens transmembrane protein BRI (BRI) mRNA, complete cds.//0//1599bp//99%//AF152462

NT2RM2000522//SKIN SECRETORY PROTEIN XP2 PRECURSOR (APEG PROTEIN).//1.30E-12//282aa//32%//P17437

NT2RM2001345//VEGETATIBLE INCOMPATIBILITY PROTEIN HET-E-1.//2.90E-08//334aa//22%//Q00808

NT2RM4001155//ADRENAL MEDULLA 50 KD PROTEIN.//4.10E-197//445aa//78%//Q27969

NT2RM4001382//Homo sapiens RanBP7/importin 7 mRNA, complete cds.//2.20E-237//1079bp//99%//AF098799

NT2RP2001327//TUMOR NECROSIS FACTOR, ALPHA-INDUCED PROTEIN 1, ENDOTHELIAL (B12 PROTEIN).//5.50E-116//311aa//71%//Q13829

NT2RP2001420//Mus musculus nuclear protein NIP45 mRNA, complete cds.//9.00E-112//742bp//82%//U76759

NT2RP2002193//Homo sapiens PIAS3 mRNA for protein inhibitor of activated STAT3, complete cds.//0//2809bp//99%//AB021868

NT2RP2002606//Rattus norvegicus Rabin3 mRNA, complete cds.//9.20E-147//874bp//87%//U19181

NT2RP2003272//Homo sapiens ubiquilin mRNA, complete cds.//0//1789bp//99%//AF176069

NT2RP2004013//TRANSCRIPTION FACTOR BTF3 (RNA POLYMERASE B TRANSCRIPTION FACTOR 3).//2.30E-53//141aa//78%//P20290

NT2RP2004242//NEUROFILAMENT TRIPLET H PROTEIN (200 KD NEUROFILAMENT PROTEIN) (NF-H).//9.90E-12//427aa//26%//P19246

NT2RP2005360//Homo sapiens sentrin/SUMO-specific protease (SENP1) mRNA, complete cds.//1.30E-52//753bp//67%//AF149770

NT2RP3000109//P54 PROTEIN PRECURSOR. //0.000065//358aa//22%//P13692
NT2RP3000605//Mus musculus mRNA for wizL, complete
cds.//0//2232bp//82%//AB012265
NT2RP3001730//SEPTIN 2 HOMOLOG (FRAGMENT).//7.10E-132//294aa//84%//Q14141
NT2RP3002273//SCD6 PROTEIN.//1.30E-09//295aa//28%//P45978
NT2RP3002399//DNA REPLICATION LICENSING FACTOR MCM4 (CDC21 HOMOLOG) (P1-
CDC21).//8.60E-79//416aa//34%//P33991
NT2RP3002818//INSERTION ELEMENT IS2A HYPOTHETICAL 48.2 KD
PROTEIN.//5.70E-226//303aa//97%//P51026
NT2RP3002948//RING CANAL PROTEIN (KELCH PROTEIN).//2.00E-
111//551aa//42%//Q04652
NT2RP3003290//Mus musculus mRNA for Ndr1 related protein Ndr3, complete
cds.//1.5e-310//1468bp//82%//AB033922
NT2RP3003876//Rattus norvegicus Rabin3 mRNA, complete cds.//4.50E-
147//874bp//87%//U19181
NT2RP4000973//PROBABLE PROTEIN DISULFIDE ISOMERASE P5 PRECURSOR (EC
5.3.4.1).//1.40E-26//90aa//42%//P38660
OVARC1001726//APICAL-LIKE PROTEIN (APXL PROTEIN).//4.30E-
16//116aa//43%//Q13796
PLACE1000133//TRANSCRIPTION FACTOR BTF3 (RNA POLYMERASE B TRANSCRIPTION
FACTOR 3).//1.80E-62//158aa//81%//P20290
PLACE1000786//PUTATIVE RHO/RAC GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR (RHO/RAC
GEF) (FACIOGENITAL DYSPLASIA PROTEIN HOMOLOG).//7.10E-
09//59aa//47%//P52734
PLACE1001845//Mus musculus cyclin ania-6a mRNA, complete cds.//3.30E-
31//925bp//62%//AF159159

PLACE1004506//Homo sapiens carboxyl terminal LIM domain protein (CLIM1) mRNA, complete cds. //2.10E-16//402bp//62%//U90878

PLACE1006469//ACETYL-COENZYME A SYNTHETASE (EC 6.2.1.1) (ACETATE--COA LIGASE) (ACYL- ACTIVATING ENZYME). //1.20E-83//313aa//49%//P27550

PLACE3000242//Homo sapiens mRNA for KIAA1114 protein, complete cds." //0//2786bp//96%//AB029037

PLACE3000242//Human trophinin mRNA, complete cds. //0//2290bp//99%//U04811

PLACE4000052//Homo sapiens ATP cassette binding transporter 1 (ABC1) mRNA, complete cds. //0//4661bp//99%//AF165281

THYR01000401//Human TcD37 homolog (HTcD37) mRNA, partial cds. //1.10E-90//430bp//99%//U67085

Y79AA1000784//Homo sapiens RanBP7/importin 7 mRNA, complete cds." //1.10E-236//1076bp//99%//AF098799

5. 高密度DNAフィルターを用いた、ハイブリダイゼーションによる遺伝子発現解析

ナイロン膜スポット用のDNAは以下のように調製した。すなわち、プラスミドを保持した大腸菌を96穴プレートの各ウェルに培養し（LB培地で37度、16時間）、その培養液の一部を、96穴プレートの10 μ lずつ分注した滅菌水中に懸濁し、100度で10分間処理した後、PCR反応のサンプルとして使用した。PCRはTaKaRa PCR Amplification Kit（宝社製）を用い、プロトコールに従って1反応20 μ lの反応溶液で行った。プラスミドのインサートcDNAを増幅するために、プライマーはシーケンシング用のプライマーME761FW（5' tacggaagtgttacttctgc3'／配列番号：154）とME1250RV（5' tgtggaggtttttctcta3'／配列番号：155）のペア一、またはM13M4（5' gttttccagtcacgac3'／配列番号：156）とM13RV（5' cagggaaacagctatgac3'／配列番号：157）のペア一を使用した。PCR反応は、

GeneAmp System9600 (PEバイオシステムズ社製) で、95度5分間処理後、95度10秒、68度1分間で10サイクルし、さらに98度20秒間、60度3分間で20サイクル行い、72度10分間で行った。PCR反応後、2 μ lの反応液を1%アガロースゲル電気泳動して、臭化エチジウムでDNAを染色し、増幅したcDNAを確認した。増幅できなかつたものは、そのcDNAインサートをもつプラスミドを、アルカリ抽出法 (J Sambrook, EF Fritsh, T Maniatis, Molecular Cloning, A laboratory manual / 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) で調製した。

DNAアレイの作製は以下のように行った。384穴プレートの各ウェルにDNAを分注した。ナイロン膜 (ペーリンガー社製) へのDNAのスポットティングは、Biomek2000 ラボラトリーオートメーションシステム (ベックマンコールター社製) の384ピンツールを用いて行った。すなわち、DNAの入った384穴プレートをセットした。そのDNA溶液に、ピンツールの384個の独立した針を同時に浸漬し、DNAを針にまぶした。その針を静かにナイロン膜に押し当てることによって、針に付着したDNAをナイロン膜にスポットティングした。スポットしたDNAの変性および、ナイロン膜への固定は定法 (J Sambrook, EF Fritsh, T Maniatis, Molecular Cloning, A laboratory manual / 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に従って行った。

ハイブリダイゼーションのプローブとしては、ラジオアイソトープでラベリングした1st strand cDNAを使用した。1st strand cDNAの合成はThermoscriptTM RT-PCR System (GIBCO社製) を用いて行った。すなわち、ヒトの各組織由来mRNA (Clontech社製) の1.5 μ gと、1 μ l 50 μ M Oligo (dT) 20を用いて、50 μ Ci [α -³³P] dATPを添加して付属のプロトコールに従って1st strand cDNAを合成した。プローブの精製は、ProbeQuantTM G-50 micro column (アマシャムファルマシアバイオテック社製) を用いて付属のプロトコールに従って行った。次に、2 units E. coli RNase Hを添加して、室温で10分間インキュベートし、さらに100 μ gヒト COT-1 DNA (GIBCO社製) を添加して、97度で10分間インキュベート後、氷上に静

置してハイブリダイゼーション用のプローブとした。

ラジオアイソトープラベルしたプローブの、DNAアレイへのハイブリダイゼーションは、定法 (J Sambrook, EF Fritsh, T Maniatis, Molecular Cloning, A laboratory manual / 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に従って行った。洗浄は、ナイロン膜を洗浄液1 (2X SSC, 1% SDS) 中で、室温 (約26度) で20分間のインキュベートを3回洗浄した後、洗浄液2 (0.1X SSC, 1% SDS) 中で、65度で20分間の洗浄を3回行った。オートラジオグラムは、BAS2000 (富士写真フィルム社製) のイメージプレートを用いて取得した。すなわち、ハイブリダイゼーションしたナイロン膜をサランラップに包み、イメージプレートの感光面に密着させて、ラジオアイソトープ感光用のカッセットに入れて、暗所で4時間静置した。イメージプレートに記録したラジオアイソトープ活性は、BAS2000を用いて解析し、オートラジオグラムの画像ファイルとして電子的に変換して記録した。各DNAスポットのシグナル強度の解析は、Visage High Density Grid Analysis Systems (ジェノミックソリューションズ社製) を用いて行い、シグナル強度を数値データ化した。データはDuplicateで取得し、その再現性は2つのDNAフィルターを1つのプローブでハイブリダイゼーションして、両フィルターで対応するスポットのシグナル強度を比較した。全スポットの95%が、相当するスポットに対して2倍以内のシグナル値であり、相関係数は $r=0.97$ である。データの再現性は十分といえる。

遺伝子発現解析の検出感度は、ナイロン膜にスポットしたDNAに相補的なプローブを作製し、ハイブリダイゼーションにおける、プローブ濃度依存的なスポットのシグナル強度の増加を検討して見積もった。DNAとしては、PLACE1008092 (GenBank Accession No. AF107253と同一)を使用した。前述の方法でPLACE1008092のDNAアレイを作製した。プローブとしては、PLACE1008092のmRNAをin vitro合成し、このRNAを鑄型として、前述のプローブ作製法と同様にして、ラジオアイソトープでラベリングした1st strand cDNAを合成して使用した。PLACE1008092のmRNA

をin vitro合成するために、pBluescript SK(-)のT7プロモーター側に PLACE1008092の5'末端が結合されるように組み替えたプラスミドを造成した。すなわち、pME18SFL3の制限酵素DraIII認識部位に組み込まれたPLACE1008092を、制限酵素XhoIで切断してPLACE1008092を切り出した。次にXhoIで切断してある pBluescript SK(-)と、切り出したPLACE1008092をDNA ligation kit ver. 2 (宝社製) を用いてライゲーションした。pBluescript SK(-)に組み替えたPLACE1008092 のmRNAのin vitro合成は、AmpliscribeTM T7 high yield transcription kit (Epicentre technologies社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーションおよび各DNAスポットのシグナル値の解析は、前述の方法と同様に行った。プローブ濃度が $1 \times 10^7 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下では、プローブ濃度に比例したシグナル増加が無いことから、この濃度域でのシグナルの比較は困難と考えられ、シグナル強度が40以下のスポットは一様に低レベルのシグナルとした。 $1 \times 10^7 \sim 0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲でプローブ濃度依存的なシグナル値の増加があり、検出感度としてはサンプルあたり発現量比が1:100,000のmRNAの検出感度である。

ヒト正常組織 (heart, lung, pituitary gland, thymus, brain, kidney, liver, spleen) における、各cDNAの発現量を0~10,000の数値で示した。その結果、少なくとも1つの組織で発現の認められる遺伝子は以下のクローンである。

HEMBA1002150、HEMBA1002417、HEMBA1003615、HEMBA1003805、HEMBA1004669、HEMBA1006676、HEMBA1007085、HEMBB1001294、MAMMA1000284、MAMMA1000416、MAMMA1001388、MAMMA1002143、MAMMA1002351、MAMMA1002461、NT2RM1000039、NT2RM1000355、NT2RM2000101、NT2RM2001345、NT2RM2001696、NT2RM4001155、NT2RM4001382、NT2RM4002593、NT2RP2000289、NT2RP2000459、NT2RP2001327、NT2RP2001420、NT2RP2002193、NT2RP2002208、NT2RP2003272、NT2RP2004013、NT2RP2005360、NT2RP3001730、NT2RP3002273、NT2RP3002399、NT2RP3003290、NT2RP3003876、OVARC1001726、PLACE1000786、PLACE1004506、PLACE1005409、

PLACE1006469、PLACE1008947、PLACE3000242、PLACE4000052、THYRO1000401、Y79AA1000258。

またこれら全ての組織で発現の認められる遺伝子は以下のクローンである。
HEMBA1002150、HEMBA1007085、MAMMA1000416、MAMMA1001388、NT2RM1000039。

またこれらどの組織でも発現の低い遺伝子は以下のクローンである。
HEMBA1002475、HEMBA1002716、HEMBA1004055、HEMBA1004889、HEMBA1005621、HEMBB1001482、HEMBB1002600、NT2RM1000055、NT2RM1001105、NT2RM2000522、NT2RM2001637、NT2RM4000027、NT2RM4000514、NT2RM4002390、NT2RP2002606、NT2RP2004242、NT2RP3000109、NT2RP3000605、NT2RP3002818、NT2RP3002948、NT2RP3004041、NT2RP4000973、OVARC1000781、OVARC1001270、PLACE1000133、PLACE1001845、PLACE1005603、PLACE1006037、Y79AA1000784、Y79AA1001781。

これらのデータを統計解析することによって、発現に特徴のある遺伝子を選別した。発現量が各組織間において大きく変動する遺伝子を選別する例を示す。

発現の変動の比較的少ないOVARC1000037 {heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP)} の発現に比べて、発現量が各組織間で大きく変動する遺伝子は、以下のように決定した。すなわちOVARC1000037の各組織でのシグナル強度の偏差平方和を求め、自由度7で除して分散 S_a^2 を決定した。次に比較する遺伝子の各組織でのシグナル強度の偏差平方和を求め、自由度7で除してその分散 S_b^2 を決定した。分散比 $F = S_b^2 / S_a^2$ として、F分布の有意水準5%以上の遺伝子を抽出した。その結果、HEMBA1002150、MAMMA1000416、NT2RM1000039、NT2RM1000355が抽出された。このように多数の遺伝子の発現を比較し統計解析することによって、ある遺伝子の発現の特徴を示した。

6. 疾患関連遺伝子の解析

非酵素的蛋白糖化反応は各種糖尿病慢性合併症の原因とされている。したがつて糖化蛋白質特異的に発現の上昇または減少する遺伝子は、糖化蛋白質による糖

尿病合併症に関する遺伝子である。血液中に存在する糖化蛋白によって影響を受けるのは、血管壁の細胞である。非酵素的タンパク質糖化反応物には、軽度の糖化タンパク質であるアマドリ化合物 (glycated protein) と、重度の糖化タンパク質である終末糖化物質 (advanced glycosylation endproduct) がある。そこで内皮細胞において、これらタンパク質特異的に発現の変化する遺伝子を探索した。内皮細胞を糖化蛋白質存在下または非存在下で培養してmRNAを抽出し、ラジオアイソトープでラベルした1st strand cDNAプローブを用いて、前記のDNAアレイとハイブリダイゼーションして、各スポットのシグナルをBAS2000で検出してArrayGauge (富士写真フィルム社製) で解析した。

終末糖化物質ウシ血清アルブミンの調製は、ウシ血清アルブミン (sigma社製) を50mM Glucoseのリン酸バッファー中で37度、8週間インキュベートして褐色化したBSAを、リン酸バッファーに対して透析して行った。

正常ヒト肺動脈内皮細胞 (Cell Applications社製) は、組織培養用のディッシュ (Farcon社製) を用いて、endothelial cell growth medium (Cell Applications社製) 中で、インキュベーター (37度、5% CO₂、加湿) に入れ、培養した。細胞がディッシュにコンフルエントになったところで、ウシ血清アルブミン (sigma社製) 、糖化ウシ血清アルブミン (sigma社製) または終末糖化物質血清アルブミンを250 μg/ml添加して33時間インキュベートした。細胞からのmRNAの抽出は、FastTrackTM 2.0 kit (Invitrogen社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このmRNAを用いて、前記の方法で同様にして行った。

ウシ血清アルブミン、糖化ウシ血清アルブミンまたは終末糖化物質ウシ血清アルブミンを含有する培地で培養したヒト肺動脈内皮細胞の、各cDNAの発現を測定した結果、内皮細胞で発現の認められる遺伝子は以下のクローンである。

HEMBA1003615、HEMBA1003805、HEMBA1004669、HEMBA1007085、HEMBB1001294、HEMBB1002600、MAMMA1000284、MAMMA1000416、MAMMA1001388、MAMMA1002461、

NT2RM1000039、NT2RM1000355、NT2RM2000101、NT2RM2001345、NT2RM2001696、
NT2RM4000514、NT2RM4001382、NT2RP2001327、NT2RP2001420、NT2RP2002208、
NT2RP2002606、NT2RP2003272、NT2RP2004013、NT2RP2004242、NT2RP2005360、
NT2RP3001730、NT2RP3002273、NT2RP3002399、NT2RP3003290、NT2RP3003876、
NT2RP3004041、NT2RP4000973、PLACE1000133、PLACE1001845、PLACE1004506、
PLACE3000242、Y79AA1000784。

7. 神経細胞分化関連遺伝子の解析

神経細胞の分化に関する遺伝子は、神経疾患の治療に有用な遺伝子である。神経系の細胞を分化誘導して発現変化する遺伝子は、神経疾患に関すると考えられる。

神経系の培養細胞NT2を分化誘導（レチノイン酸（RA）刺激）して発現変化する遺伝子を探査した。

NT2細胞の取扱いについては、基本的に付属のINSTRUCTION MANUALに従った。未分化NT2細胞とは、OPTI-MEM I (GIBCO BRL社製、カタログNo. 31985)、10% (v/v) fetal bovine serum (GIBCO BRL社製)、1% (v/v) penicillin-streptomycin (GIBCO BRL社製) の培地で継代していたNT2細胞である。レチノイン酸存在下で培養したNT2細胞とは、未分化NT2細胞をD-MEM (GIBCO BRL社製、カタログNo. 11965)、10% (v/v) fetal bovine serum、1% (v/v) penicillin-streptomycin、10 μM Retinoic acid (GIBCO BRL社製) のレチノイン酸添加培地に移した後、5週間継代後の細胞である。RA存在下で培養してさらに阻害剤を添加して培養したNT2細胞とは、レチノイン酸添加5週間を経たNT2細胞を細胞分裂阻害剤を添加した培地D-MEM (GIBCO BRL社製、カタログNo. 11965)、10% (v/v) fetal bovine serum、1% (v/v) penicillin-streptomycin、10 μM Retinoic acid、10 μM FudR (5-Fluoro-2'-deoxyuridine : GIBCO BRL社製)、10 μM Urd (Uridine : GIBCO BRL社製)、1 μM araC (Cytosine β-D-Arabinofuranoside : GIBCO BRL社製) に移した後2週間後の細胞である。それぞれ

の細胞はトリプシン処理して回収後、total RNAの抽出を、S.N.A.P.TM total RNA isolation kit (Invitrogen社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このtotal RNA 10 μgを用いて、前記の方法で同様にして行った。

データはn=3で取得し、分化誘導刺激ありの細胞のシグナルと、なしの細胞のシグナルを比較した。比較には二標本t検定の統計処理を行って、シグナル値の分布に有意に差があるクローンを、p < 0.05で選択した。本解析は、シグナル値の低いクローンであっても差を統計的に検出できる。したがって40以下のシグナル値のクローンに対しても評価を行った。

それぞれ細胞の各遺伝子についてシグナル値の平均 (M_1, M_2) と標本分散 (s_1^2, s_2^2) を求め、比較する2つの細胞の標本分散から合成標本分散 s^2 を求めた。 $t = (M_1 - M_2)/s/(1/3+1/3)^{1/2}$ を求めた。自由度4としてt分布表の有意水準の確率Pである0.05と0.01のt値と比較して、値が大きい場合にそれぞれP<0.05、またはP<0.01で両細胞の遺伝子の発現に差があると判定した。

HEMBA1003805、HEMBA1004669、HEMBA1007085、NT2RM1000039、NT2RM1001105、NT2RM2001637、NT2RP2001420、NT2RP2002193、NT2RP2002208、NT2RP2003272、NT2RP3000109、NT2RP3000605、NT2RP3003290、NT2RP3004041、PLACE1001845、PLACE1005409、PLACE3000242は、RAにより発現が増加した。NT2RM1000355、NT2RP2002193、NT2RP2003272、NT2RP3004041、PLACE1004506、PLACE1005603、PLACE3000242は、RA／阻害剤で発現が増加した。また、NT2RM4002593はRA／阻害剤で発現が減少した。また、NT2RP2002193、NT2RP2003272、NT2RP3004041、PLACE3000242はRAと、RA／阻害剤の両方で発現が増加した。これらのクローンは神経疾患に関するクローンである。

8. リウマチ関連遺伝子の解析

慢性関節リュウマチの成因には、関節腔の内面を覆っている滑膜細胞の増殖や、

関節滑膜組織に浸潤した白血球が産生するサイトカインの作用による炎症反応が関係していると考えられている（リュウマチ情報センター、<http://www.rheumanet.or.jp/>）。最近の研究によれば、tissue necrosis factor (TNF) -alphaが関与することがわかっている（Current opinion in immunology 1999, 11:657-662）。TNFが滑膜細胞に作用して発現変化する遺伝子は、リュウマチに関すると考えられる。

初代培養滑膜細胞をTNF-alpha存在下で培養して発現変化する遺伝子を探索した。初代培養平滑筋細胞（Cell Applications社製）は、培養皿にコンフルエントに培養して、10 ng/ml human TNF-alpha（ペーリングガーマンハイム社製）を終濃度にして添加してさらに24時間培養した。

細胞からのtotal RNAの抽出は、S.N.A.P.™ total RNA isolation kit (Invitrogen社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このtotal RNA 10 µgを用いて、前記の方法で同様にして行った。データはn = 3で取得し、TNF刺激ありの細胞のシグナル値と、なしの細胞のシグナル値を比較した。比較には二標本t検定の統計処理を行って、シグナル値の分布に有意に差があるクローンを、p < 0.05で選択した。本解析は、シグナル値の低いクローンであっても差を統計的に検出できる。したがって40以下のシグナル値のクローンに対しても評価を行った。

それぞれ細胞の各遺伝子についてシグナル値の平均 (M_1, M_2) と標本分散 (s_1^2, s_2^2) を求め、比較する2つの細胞の標本分散から合成標本分散 s^2 を求めた。 $t = (M_1 - M_2)/s/(1/3+1/3)^{1/2}$ を求めた。自由度4としてt分布表の有意水準の確率Pである0.05と0.01のt値と比較して、値が大きい場合にそれぞれP<0.05、またはP<0.01で両細胞の遺伝子の発現に差があると判定した。

その結果、HEMBA1004889、MAMMA1000416、NT2RM1000039、NT2RM2000101、NT2RM4000514、NT2RP2003272、NT2RP3002399、Y79AA1000784は、TNF-alphaで発現が増加した。また、HEMBA1002150、NT2RP3003290、OVARC1001270は、TNF-alpha

で発現が減少した。これらのクローンはリュウマチに関するクローンである。

9. 紫外線傷害関連遺伝子の解析

紫外線は健康に少なからず影響を及ぼすことが知られている。近年はオゾン層破壊に伴って紫外線傷害にさらされる機会が多くなっており、皮膚癌などの危険因子として認識されてきている (United States Environmental Protection Agency: Ozone Depletion Home Page, <http://www.epa.gov/ozone/>)。紫外線が皮膚表皮細胞に作用して発現変化する遺伝子は、皮膚の紫外線傷害に関すると考えられる。

紫外線照射した初代培養皮膚由来線維芽細胞を培養して、発現変化する遺伝子を探索した。初代培養皮膚由来線維芽細胞 (Cell Applications社製) は、培養皿にコンフルエントに培養して、254 nmの紫外線を $10,000 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ 照射した。細胞からのmRNAの抽出は、未照射の細胞、照射後4時間または24時間培養した細胞を対象に、FastTrack™ 2.0 mRNA isolation kit (Invitrogen社製) を用いて行った。ハイブリダイゼーション用のプローブのラベリングは、このmRNA 1.5 μg を用いて、前記の方法で同様にして行った。データはn = 3で取得し、紫外線刺激ありの細胞のシグナル値と、なしの細胞のシグナル値を比較した。比較には二標本t検定の統計処理を行って、シグナル値の分布に有意に差があるクローンを、 $p < 0.05$ で選択した。本解析は、シグナル値の低いクローンであっても差を統計的に検出できる。したがって40以下のシグナル値のクローンに対しても評価を行った。

それぞれ細胞の各遺伝子についてシグナル値の平均 (M_1, M_2) と標本分散 (s_1^2, s_2^2) を求め、比較する2つの細胞の標本分散から合成標本分散 s^2 を求めた。 $t = (M_1 - M_2)/s/(1/3+1/3)^{1/2}$ を求めた。自由度4としてt分布表の有意水準の確率Pである0.05と0.01のt値と比較して、値が大きい場合にそれぞれP<0.05、またはP<0.01で両細胞の遺伝子の発現に差があると判定した。未分化の細胞に比べてシグナル

の平均値が、増加 (+) または減少を (-) 記した。

次のクローンは、紫外線照射によって、4時間後または24時間後に発現が減少した。これらクローンは紫外線傷害に関するクローンである。

HEMBA1002475、HEMBA1004055、HEMBA1004669、HEMBA1006676、HEMBA1007085、HEMBB1002600、MAMMA1000284、MAMMA1000416、NT2RM1000039、NT2RM2000101、NT2RM2001696、NT2RM4002593、NT2RP2000459、NT2RP2001327、NT2RP2001420、NT2RP2002193、NT2RP2002208、NT2RP2003272、NT2RP2004013、NT2RP2004242、NT2RP3000109、NT2RP3000605、NT2RP3001730、NT2RP3002273、NT2RP3003290、NT2RP4000973、OVARC1000781、OVARC1001270、OVARC1001726、PLACE1000133、PLACE1001845、PLACE1004506、PLACE1005409、PLACE1005603、PLACE1006037、PLACE1006469、PLACE1008947、PLACE3000242、PLACE4000052、THYR01000401、Y79AA1000784、Y79AA1001781。

産業上の利用の可能性

本発明により、胃癌に関連する遺伝子が提供された。本発明の胃癌関連遺伝子は、胃癌において特異的に発現レベルの変化が見出された遺伝子である。したがって、現在の胃癌の診断および治療が一新される可能性が高い。胃癌のスクリーニングは、現在のところ一定の年齢以上となった健常者を対象として、主に内視鏡やX線検査等の画像診断によって行われている。胃癌に特異性の高い腫瘍マーカーであれば、血清による早期診断が可能になり、単独または従来の方法との組み合わせにより早期胃癌の発見率が向上することが期待される。また、転移マーカーにより、画像診断では検出できない微少転移の存在を予測したり、予後マーカーで治療前に予後を予測したりすることが可能になる。

また、本発明の遺伝子が、胃組織の癌化や悪性度に密接に関連している事から、これらの遺伝子や、それによってコードされる蛋白質は、癌治療の標的分子として有用である。これらの遺伝子や、蛋白質の機能を調節することができる化合物

を見出すことにより、進行癌に有効な抗癌剤を開発することができる。

また本発明により、高腹膜播種細胞株OCUM-2MD3に特異的に発現している遺伝子が提供された。本発明に基づく遺伝子、ならびにそれがコードするタンパク質は、スキルス胃癌の腹膜播種に密接に関連している。したがって、この遺伝子やタンパク質を患者体液や摘出癌組織に検出するとき、その患者の癌は腹膜播種を起こしやすいものであることが予測できる。すなわち本発明は、スキルス胃癌の悪性度の予測に利用することができる。

一方、本発明の遺伝子、あるいはそれがコードするタンパク質は、癌細胞の腹膜播種において、重要な役割を果たしている可能性が高い。したがって、この遺伝子やタンパク質の機能を阻害することによって腹膜播種を予防、あるいは抑制することができる可能性がある。すなわち本発明は、スキルス胃癌の腹膜播種の予防や治療に有用な化合物のスクリーニングに用いることができる。本発明のタンパク質が胃癌の腹膜播種において重要な役割を果たしていると考えられることから、創薬ターゲットとして重要である。

請求の範囲

1. 下記 (a) から (d) のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

(a) 配列番号：1、3、5、7、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、130、132、134、136、138、140、142、144、146、および148に記載された塩基配列のいずれかを含むポリヌクレオチド、

(b) 配列番号：2、4、6、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、131、133、135、137、139、141、143、145、147、および149に記載のアミノ酸配列のいずれかからなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

(c) 配列番号：2、4、6、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、

131、133、135、137、139、141、143、145、147、および149に記載のいずれかのアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および／または付加したアミノ酸配列からなり、前記アミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

(d) 配列番号：1、3、5、7、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、130、132、134、136、138、140、142、144、146、および148に記載されたいずれかの塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされ、前記塩基配列によってコードされるアミノ酸配列からなる蛋白質と機能的に同等なタンパク質をコードするポリヌクレオチド、

2. 請求項1に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質の部分ペプチドをコードするポリヌクレオチド。
3. 請求項1、または請求項2に記載のポリヌクレオチドによってコードされる蛋白質、または部分ペプチド。
4. 請求項1、または請求項2に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
5. 請求項1、もしくは請求項2に記載のポリヌクレオチド、または請求項4に記載のベクターを保持する形質転換体。
6. 請求項5に記載の形質転換体を培養し、発現産物を回収する工程を含む、請求項3に記載の蛋白質または部分ペプチドの製造方法。

7. 請求項 1、または請求項 2 に記載のポリヌクレオチド、またはその相補鎖に相補的な塩基配列からなる少なくとも 15 塩基の長さを有するポリヌクレオチド。
8. 請求項 3 に記載の蛋白質または部分ペプチドに対する抗体。
9. 請求項 3 に記載の蛋白質と、請求項 8 に記載の抗体の免疫学的な反応を観察する工程を含む、免疫学的測定方法。
10. 次の工程を含む、請求項 1 に記載のポリヌクレオチドの発現を制御する化合物をスクリーニングする方法。
 - (a) 胃癌細胞に候補化合物を接触させる工程、
 - (b) 請求項 1 に記載の (a) に記載の塩基配列からなる遺伝子の胃癌細胞における発現レベルを、対照と比較する工程、
 - (c) 遺伝子の発現レベルを変化させる候補化合物を選択する工程、
11. 胃癌の発生および／または転移の制御における請求項 10 に記載の方法によって得ることができる化合物の使用。
12. 次の工程を含む、胃癌の検出方法。
 - (a) 生体試料中の請求項 1 に記載のポリヌクレオチドを測定する工程、
 - (b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程
13. 次の工程を含む、胃癌の検出方法。
 - (a) 生体試料中の請求項 3 に記載の蛋白質および／または部分ペプチドを測定する工程、
 - (b) (a) の測定結果を胃癌の存在と関連付ける工程

SEQUENCE LISTING

<110> Helix Research Institute

<120> Genes related to stomach cancer

<130> H1-107PCT5

<140>

<141>

<150> JP 1999-248036

<151> 1999-07-29

<150> JP 1999-300253

<151> 1999-08-27

<150> US 60/159590

<151> 1999-10-18

<150> JP 2000-118776

<151> 2000-01-11

<150> US 60/183322

<151> 2000-02-17

<150> JP 2000-183767

<151> 2000-05-02

<150> H1-107DP4

<151> 2000-06-09

<160> 157

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1672

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (112)..(1410)

<400> 1

gggccacaag gctacagctg ccactgtcgc ctgggttcc ggccagcgga ggatgtatccg 60
caccgctgtg tggacacaga tgagtgccag attgccgtg tgtgccagca gatgtgtgtc 120

aactacgttg gtggcttcga gtgttattgt agcgagggac atgagctgga ggctgatggc 180
 atcagctgca gcccgtgcagg ggccatgggt gcccaggcgtt cccaggaccc cggagatgag 240
 ttgctggatg acggggagga tgaggaagat gaagacgagg cctggaaggc cttcaacggt 300
 ggctggacgg agatgcctgg gatcctgtgg atggagccct a cgcagccgc tgactttgcc 360
 ctggcctata gaccgagctt cccagaggac agagagccac agatacccta cccggagccc 420
 acctggccac ccccgctcag tgccccccagg gtcccctacc actcctcagt gctctccgtc 480
 accccggcctg tggtgtctc tgccacgcattt cccacactgc cttctgccc ccagcctcct 540
 gtgatccctg ccacacaccc agctttgtcc cgtgaccacc agatccccgt gatcgttagcc 600
 aactatccag atctgccttc tgcctaccaa cccggatttc tctctgtctc tcattcagca 660
 cagcctcctg cccaccagcc ccctatgatc tcaacccaaat atccggagct cttccctgcc 720
 caccagtccc ccatgtttcc agacacccgg gtcgctggca cccagaccac cactcatttg 780
 cctggaatcc cacctaacca tgccctctg gtcaccaccc tgggtgccc gctacccct 840
 caagcccccag atgcccctgt cctcagaacc caggccaccc agcttcccat tatccaact 900
 gcccagccct ctctgaccac cacctccagg tcccctgtgt ctccctgccc tcaaattctct 960
 gtgcctgctg ccacccagcc cgccagccctc cccacccctcc tgccctctca gagccccact 1020
 aaccagacctt caccatcag ccctacacat ccccatccaa aagccccca aatcccaagg 1080
 gaagatggcc ccagccccaa gttggccctg tggctgccc caccagctcc cacagcagcc 1140
 ccaacagcccccc tgggggagggc tggcttgcc gaggcacagcc agagggatga ccgggtggctg 1200
 ctgggtggcac tcctgggtgcc aacgtgtgtc tttttgggtt tcctgcttgc actgggcattc 1260
 gtgtactgca cccgctgtgg ccccccattgc cccaaacaagg gcattactga ctgctatcgc 1320
 tgggtcatcc atgctgggag caagagccca acagaaccca tgccccccag gggcagccctc 1380
 acaggggtgc agacctgcag aaccagctgt tgatgggtg cagacccccc tcatggatga 1440
 tggggcgtg gacacatggc cggggctgca ccagggaccc atgggggctg cccagctgga 1500
 cagatggctt cctgctcccc aggcccagcc agggtcctct ctcaaccact agacttggct 1560
 ctcaggaact ctgcttcctg gcccagcgct cgtgaccaag gatacacccaa agcccttaag 1620
 acctcaggggg gcgggtgctg gggcttctc caataaatgg ggtgtcaacc tt 1672

<210> 2
 <211> 433
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 Met Cys Val Asn Tyr Val Gly Gly Phe Glu Cys Tyr Cys Ser Glu Gly
 1 5 10 15
 His Glu Leu Glu Ala Asp Gly Ile Ser Cys Ser Pro Ala Gly Ala Met
 20 25 30
 Gly Ala Gln Ala Ser Gln Asp Leu Gly Asp Glu Leu Leu Asp Asp Gly
 35 40 45
 Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu Ala Trp Lys Ala Phe Asn Gly Gly
 50 55 60
 Trp Thr Glu Met Pro Gly Ile Leu Trp Met Glu Pro Thr Gln Pro Pro
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Leu Ala Tyr Arg Pro Ser Phe Pro Glu Asp Arg Glu Pro
 85 90 95
 Gln Ile Pro Tyr Pro Glu Pro Thr Trp Pro Pro Pro Leu Ser Ala Pro
 100 105 110

Arg Val Pro Tyr His Ser Ser Val Leu Ser Val Thr Arg Pro Val Val
 115 120 125
 Val Ser Ala Thr His Pro Thr Leu Pro Ser Ala His Gln Pro Pro Val
 130 135 140
 Ile Pro Ala Thr His Pro Ala Leu Ser Arg Asp His Gln Ile Pro Val
 145 150 155 160
 Ile Val Ala Asn Tyr Pro Asp Leu Pro Ser Ala Tyr Gln Pro Gly Ile
 165 170 175
 Leu Ser Val Ser His Ser Ala Gln Pro Pro Ala His Gln Pro Pro Met
 180 185 190
 Ile Ser Thr Lys Tyr Pro Glu Leu Phe Pro Ala His Gln Ser Pro Met
 195 200 205
 Phe Pro Asp Thr Arg Val Ala Gly Thr Gln Thr Thr His Leu Pro
 210 215 220
 Gly Ile Pro Pro Asn His Ala Pro Leu Val Thr Thr Leu Gly Ala Gln
 225 230 235 240
 Leu Pro Pro Gln Ala Pro Asp Ala Leu Val Leu Arg Thr Gln Ala Thr
 245 250 255
 Gln Leu Pro Ile Ile Pro Thr Ala Gln Pro Ser Leu Thr Thr Ser
 260 265 270
 Arg Ser Pro Val Ser Pro Ala His Gln Ile Ser Val Pro Ala Ala Thr
 275 280 285
 Gln Pro Ala Ala Leu Pro Thr Leu Leu Pro Ser Gln Ser Pro Thr Asn
 290 295 300
 Gln Thr Ser Pro Ile Ser Pro Thr His Pro His Ser Lys Ala Pro Gln
 305 310 315 320
 Ile Pro Arg Glu Asp Gly Pro Ser Pro Lys Leu Ala Leu Trp Leu Pro
 325 330 335
 Ser Pro Ala Pro Thr Ala Ala Pro Thr Ala Leu Gly Glu Ala Gly Leu
 340 345 350
 Ala Glu His Ser Gln Arg Asp Asp Arg Trp Leu Leu Val Ala Leu Leu
 355 360 365
 Val Pro Thr Cys Val Phe Leu Val Val Leu Leu Ala Leu Gly Ile Val
 370 375 380
 Tyr Cys Thr Arg Cys Gly Pro His Ala Pro Asn Lys Arg Ile Thr Asp
 385 390 395 400
 Cys Tyr Arg Trp Val Ile His Ala Gly Ser Lys Ser Pro Thr Glu Pro
 405 410 415
 Met Pro Pro Arg Gly Ser Leu Thr Gly Val Gln Thr Cys Arg Thr Ser
 420 425 430
 Val

<210> 3

<211> 1831

<212> DNA

<213> Homo sapi ns



<220>

<221> CDS

<222> (57)..(1700)

<400> 3

cagagggtgcc cagggaaagc agctatgaca tctacagagt gcccagcagt cagagcatgg 60
 aggatctgtgg gtacagcccc gacacgcgtg tggccgcctt cctcaaggc aagagcatcg 120
 ggctgcggct ggcagggggc aatgacgtgg gcatcttcgt gtccggggtg caggcgggca 180
 gcccggccga cgggcagggc atccaggagg gagatcagat tctgcaggtg aatgacgtgc 240
 cattccagaa cctgacacgg gaggaggcag tgcatgttcc tctggggctg ccaccaggcg 300
 aggagatgga gctggtgacg cagcggaaagc aggacattt ctggaaaatg gtgcagtccc 360
 gcgtgggtga ctcccttctac atccgcactc actttgagct ggagcccaagt ccgcgtctg 420
 gcctgggctt caccctgtggc gacgttcc acgtgctgga cacgctgcac cccggccccc 480
 ggcagagcca cgcacgagga ggccactggc tggcggtgcg catgggtcgt gacctgcggg 540
 agcaagagcg gggcatcatt cccaaaccaga gcagggcga gcagctggcc agcctggaag 600
 ctgcccagag ggccgtggga gtccggcccg gctcctccgc gggctccaat gctcggccg 660
 agttctggcg gctgcgggt ctgcgtcgag gagccaagaa gaccactcag cggagccgtg 720
 aggacctctc agctctgacc cgacaggccc gctaccgcctc ctacgaacga gtggtgttc 780
 gagaagccag tttaaagccgc cccgttagtga tcctgggacc cgtggccgac attgctatgc 840
 agaagttgac tgctgagatg cctgaccagg ttaaatcgc agagactgtg tccaggaccg 900
 acagccccctc caagatcatc aaactagaca ccgtcggtt gattgcagaa aaagacaagc 960
 atgcgcctt ggatgtgacc ccctccgcct tcgagccct caactatgtg cagtactacc 1020
 ccattgtgtt ctttttcattc cccgagagcc ggccggccct caaggcactg cgccagtggc 1080
 tggcgcttc ctcccgccgc agcacccgtc gcctctacgc acaagcccaag aagctgcgaa 1140
 aacacagcag ccaccccttc acagccacca tccctctgaa tggcacgagt gacacctgg 1200
 accaggagct caaggccatc attcgagagc agcagacgcg gcccacatctgg acggccgaaag 1260
 atcagctgga tggctcttg gaggacaacc tagacctccc tcaccacggc ctggccgaca 1320
 gctccgctga cctcagctgc gacagccgcg ttaacagcga ctacgagacg gacggcgagg 1380
 gccggcgta cacggatggc gagggttaca cagacggcga gggggggccc tacacggatg 1440
 tggatgtga gcccccgct ccagccctgg cccggcttc ggagcccggt caggcagatg 1500
 agtcccagag cccgaggat cgtgggagaa tctcgctca tcagggggcc caggtggaca 1560
 gcccaccc ccagggacag tggcgacagg acagcatgcg aacctatgaa cgggaagccc 1620
 tgaagaaaaa gtttacgcga gtccatgtatg cggagtcctc cgatgaagac ggctatgact 1680
 ggggtccggc cactgacctg tgacctctcg cgggctgcca gctgggtccgt cctccctctc 1740
 cttccctggg gctgggactc agtttcccat acagaaccca caaccttacc tccctccgccc 1800
 tggtcttaa taaacagagt atttcacag c 1831

<210> 4

<211> 548

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Glu Asp Arg Gly Tyr Ser Pro Asp Thr Arg Val Val Arg Phe Leu

1

5

10

15

Lys Gly Lys Ser Ile Gly Leu Arg Leu Ala Gly Gly Asn Asp Val Gly

	20	25	30
Ile Phe Val Ser Gly Val Gln Ala Gly Ser Pro Ala Asp Gly Gln Gly			
35	40	45	
Ile Gln Glu Gly Asp Gln Ile Leu Gln Val Asn Asp Val Pro Phe Gln			
50	55	60	
Asn Leu Thr Arg Glu Glu Ala Val Gln Phe Leu Leu Gly Leu Pro Pro			
65	70	75	80
Gly Glu Glu Met Glu Leu Val Thr Gln Arg Lys Gln Asp Ile Phe Trp			
85	90	95	
Lys Met Val Gln Ser Arg Val Gly Asp Ser Phe Tyr Ile Arg Thr His			
100	105	110	
Phe Glu Leu Glu Pro Ser Pro Pro Ser Gly Leu Gly Phe Thr Arg Gly			
115	120	125	
Asp Val Phe His Val Leu Asp Thr Leu His Pro Gly Pro Gly Gln Ser			
130	135	140	
His Ala Arg Gly Gly His Trp Leu Ala Val Arg Met Gly Arg Asp Leu			
145	150	155	160
Arg Glu Gln Glu Arg Gly Ile Ile Pro Asn Gln Ser Arg Ala Glu Gln			
165	170	175	
Leu Ala Ser Leu Glu Ala Ala Gln Arg Ala Val Gly Val Gly Pro Gly			
180	185	190	
Ser Ser Ala Gly Ser Asn Ala Arg Ala Glu Phe Trp Arg Leu Arg Gly			
195	200	205	
Leu Arg Arg Gly Ala Lys Lys Thr Thr Gln Arg Ser Arg Glu Asp Leu			
210	215	220	
Ser Ala Leu Thr Arg Gln Gly Arg Tyr Pro Pro Tyr Glu Arg Val Val			
225	230	235	240
Leu Arg Glu Ala Ser Phe Lys Arg Pro Val Val Ile Leu Gly Pro Val			
245	250	255	
Ala Asp Ile Ala Met Gln Lys Leu Thr Ala Glu Met Pro Asp Gln Phe			
260	265	270	
Glu Ile Ala Glu Thr Val Ser Arg Thr Asp Ser Pro Ser Lys Ile Ile			
275	280	285	
Lys Leu Asp Thr Val Arg Val Ile Ala Glu Lys Asp Lys His Ala Leu			
290	295	300	
Leu Asp Val Thr Pro Ser Ala Ile Glu Arg Leu Asn Tyr Val Gln Tyr			
305	310	315	320
Tyr Pro Ile Val Val Phe Phe Ile Pro Glu Ser Arg Pro Ala Leu Lys			
325	330	335	
Ala Leu Arg Gln Trp Leu Ala Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Arg Arg			
340	345	350	
Leu Tyr Ala Gln Ala Gln Lys Leu Arg Lys His Ser Ser His Leu Phe			
355	360	365	
Thr Ala Thr Ile Pro Leu Asn Gly Thr Ser Asp Thr Trp Tyr Gln Glu			
370	375	380	
Leu Lys Ala Ile Ile Arg Glu Gln Gln Thr Arg Pro Ile Trp Thr Ala			
385	390	395	400
Glu Asp Gln Leu Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asn Leu Asp Leu Pro His			

405	410	415	
His Gly Leu Ala Asp Ser Ser Ala Asp Leu Ser Cys Asp Ser Arg Val			
420	425	430	
Asn Ser Asp Tyr Glu Thr Asp Gly Glu Gly Gly Ala Tyr Thr Asp Gly			
435	440	445	
Glu Gly Tyr Thr Asp Gly Glu Gly Pro Tyr Thr Asp Val Asp Asp			
450	455	460	
Glu Pro Pro Ala Pro Ala Leu Ala Arg Ser Ser Glu Pro Val Gln Ala			
465	470	475	480
Asp Glu Ser Gln Ser Pro Arg Asp Arg Gly Arg Ile Ser Ala His Gln			
485	490	495	
Gly Ala Gln Val Asp Ser Arg His Pro Gln Gly Gln Trp Arg Gln Asp			
500	505	510	
Ser Met Arg Thr Tyr Glu Arg Glu Ala Leu Lys Lys Lys Phe Thr Arg			
515	520	525	
Val His Asp Ala Glu Ser Ser Asp Glu Asp Gly Tyr Asp Trp Gly Pro			
530	535	540	
Ala Thr Asp Leu			
545			

<210> 5
 <211> 1643
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (27)..(1643)

<400> 5
 gcaaaaagcg aggcgacggc ttaaagatgg agaacgaccc ccaggaggcg gagtctgaaa 60
 tggccctgga tgctgaggtc ctggacgtgt acaagaactg caacggggtg gtcatgtatgt 120
 tcgacattac caagcagtgg accttcaatt acattctccg ggagcttcca aaagtgcucca 180
 cccacgtgcc agtgtgcgtg ctggaaact accggacat gggcgagcac cgagtcatcc 240
 tgccggacga cgtgcgtgac ttcatcgaca acctggacag acctccaggt tcctccact 300
 tccgctatgc tgagtctcc atgaagaaca gcttcggcct aaagtacctt cataagttct 360
 tcaatatccc atttttgcag cttcagaggg agacgcgttt gcggcagctg gagacgaacc 420
 agctggacat ggacgccacg ctggaggagc tgtcggcga gcaggagacg gaggaccaga 480
 actacggcat cttcctggag atgatggagg ctgcgcaccc tggccatgcg tccccactgg 540
 cggccaaacgg gcagagccca tccccggcct cccagtcacc agtggcgcct gcaggcgctg 600
 tgtccacggg gagctgcacgc cccggcacac cccagccgc cccacagctg cccctcaatg 660
 ccgcggccacc atcctctgtc cccctgtac caccctcaga ggccctgccc ccacctgcgt 720
 gcccctcagc ccccgccccca cggcgacgc tcatctctag gctgtttggg acgtcacctg 780
 ccaccgaggc agccccctcca cttccagagc cagtcggc cgcacagggc ccagcaacgg 840
 tccagagtgt ggaggacttt gttcctgacg accgcctgga cccgacgttc ctggaaagaca 900
 caaccccccgc cagggacgag aagaaggtgg gggccaaaggc tgcccagcag gacagcgcaca 960
 gtgatgggga ggccctggc ggcaacccga tggtggcagg gttccaggac gatgtggacc 1020

tcgaagacca gccacgtggg agtccccgc tgcctgcagg ccccgtcccc agtcaagaca 1080
 tcactttc gagtgaggag gaagcagaag tggcagetcc cacaaaaaggc cctgccccag 1140
 ctccccagca gtgctcagag ccagagacca agtggtcctc cataccagct tcgaagccac 1200
 ggagggggac agctcccacg aggaccgcag caccccccctg gccaggcggt gtctctgttc 1260
 gcacagggtcc ggagaagcgc agcagcacca ggcccccctgc tgagatggag ccgggaaagg 1320
 gtgagcaggc ctcctcgctg gagagtgacc cccgagggacc cattgctgca caaatgctgt 1380
 cttcgtcat gatatgaccc gactttgagg gcgagggatc agacacacag cgcaggcgg 1440
 atgactttcc cgtgcagat gacccctccg atgtgactga cgaggatgag ggccctgccc 1500
 agccgcccc accccccaag ctccctctcc ccgccttcag actgaagaat gactcggacc 1560
 tcttcggct ggggctggag gaggccggac ccaaggagag cagtgaggaa ggtaaggagg 1620
 gcaaaacccc ctctaaggag aag 1643

<210> 6

<211> 539

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met	Glu	Asn	Asp	Pro	Gln	Glu	Ala	Glu	Ser	Glu	Met	Ala	Leu	Asp	Ala
1					5				10				15		
Glu	Phe	Leu	Asp	Val	Tyr	Lys	Asn	Cys	Asn	Gly	Val	Val	Met	Met	Phe
					20				25				30		
Asp	Ile	Thr	Lys	Gln	Trp	Thr	Phe	Asn	Tyr	Ile	Leu	Arg	Glu	Leu	Pro
					35			40				45			
Lys	Val	Pro	Thr	His	Val	Pro	Val	Cys	Val	Leu	Gly	Asn	Tyr	Arg	Asp
					50			55			60				
Met	Gly	Glu	His	Arg	Val	Ile	Leu	Pro	Asp	Asp	Val	Arg	Asp	Phe	Ile
					65			70		75			80		
Asp	Asn	Leu	Asp	Arg	Pro	Pro	Gly	Ser	Ser	Tyr	Phe	Arg	Tyr	Ala	Glu
					85			90				95			
Ser	Ser	Met	Lys	Asn	Ser	Phe	Gly	Leu	Lys	Tyr	Leu	His	Lys	Phe	Phe
					100			105				110			
Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Gln	Arg	Glu	Thr	Leu	Leu	Arg	Gln	Leu
					115			120				125			
Glu	Thr	Asn	Gln	Leu	Asp	Met	Asp	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Leu	Ser	Val
					130			135			140				
Gln	Gln	Glu	Thr	Glu	Asp	Gln	Asn	Tyr	Gly	Ile	Phe	Leu	Glu	Met	Met
					145			150			155			160	
Glu	Ala	Arg	Ser	Arg	Gly	His	Ala	Ser	Pro	Leu	Ala	Ala	Asn	Gly	Gln
					165			170				175			
Ser	Pro	Ser	Pro	Gly	Ser	Gln	Ser	Pro	Val	Val	Pro	Ala	Gly	Ala	Val
					180			185			190				
Ser	Thr	Gly	Ser	Cys	Ser	Pro	Gly	Thr	Pro	Gln	Pro	Ala	Pro	Gln	Leu
					195			200			205				
Pro	Leu	Asn	Ala	Ala	Pro	Pro	Ser	Ser	Val	Pro	Pro	Val	Pro	Pro	Ser
					210			215			220				
Glu	Ala	Leu	Pro	Pro	Pro	Ala	Cys	Pro	Ser	Ala	Pro	Ala	Pro	Arg	Arg



225	230	235	240
Ser Ile Ile Ser Arg Leu Phe Gly Thr Ser Pro Ala Thr Glu Ala Ala			
245	250	255	
Pro Pro Pro Pro Glu Pro Val Pro Ala Ala Gln Gly Pro Ala Thr Val			
260	265	270	
Gln Ser Val Glu Asp Phe Val Pro Asp Asp Arg Leu Asp Arg Ser Phe			
275	280	285	
Leu Glu Asp Thr Thr Pro Ala Arg Asp Glu Lys Lys Val Gly Ala Lys			
290	295	300	
Ala Ala Gln Gln Asp Ser Asp Ser Asp Gly Glu Ala Leu Gly Gly Asn			
305	310	315	320
Pro Met Val Ala Gly Phe Gln Asp Asp Val Asp Leu Glu Asp Gln Pro			
325	330	335	
Arg Gly Ser Pro Pro Leu Pro Ala Gly Pro Val Pro Ser Gln Asp Ile			
340	345	350	
Thr Leu Ser Ser Glu Glu Glu Ala Glu Val Ala Ala Pro Thr Lys Gly			
355	360	365	
Pro Ala Pro Ala Pro Gln Gln Cys Ser Glu Pro Glu Thr Lys Trp Ser			
370	375	380	
Ser Ile Pro Ala Ser Lys Pro Arg Arg Gly Thr Ala Pro Thr Arg Thr			
385	390	395	400
Ala Ala Pro Pro Trp Pro Gly Gly Val Ser Val Arg Thr Gly Pro Glu			
405	410	415	
Lys Arg Ser Ser Thr Arg Pro Pro Ala Glu Met Glu Pro Gly Lys Gly			
420	425	430	
Glu Gln Ala Ser Ser Ser Glu Ser Asp Pro Glu Gly Pro Ile Ala Ala			
435	440	445	
Gln Met Leu Ser Phe Val Met Asp Asp Pro Asp Phe Glu Gly Glu Gly			
450	455	460	
Ser Asp Thr Gln Arg Arg Ala Asp Asp Phe Pro Val Arg Asp Asp Pro			
465	470	475	480
Ser Asp Val Thr Asp Glu Asp Glu Gly Pro Ala Glu Pro Pro Pro			
485	490	495	
Pro Lys Leu Pro Leu Pro Ala Phe Arg Leu Lys Asn Asp Ser Asp Leu			
500	505	510	
Phe Gly Leu Gly Leu Glu Glu Ala Gly Pro Lys Glu Ser Ser Glu Glu			
515	520	525	
Gly Lys Glu Gly Lys Thr Pro Ser Lys Glu Lys			
530	535		

<210> 7

<211> 1673

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

aatcatgtta gattttctga gagtgaaaaac acctgcccatac tacaaattac aaggctggat 60

aacagctcac tccatttcaa attcagtggaa aacccaagag ctaggttctt actgaatttg 120
 catctcaatt tgggaaactg aacttagctt tcaaagatca taggaagtct ggttggagaa 180
 actaggatt attctggcaa tgggtgcagg aaggtggtca gaataaccca gtcgcattg 240
 gtttgagaa acggaactat cttatgcaga gcccgaggg caagtctcag acccatgggt 300
 tgaagccatg gagaaggaaa ttggatcca atgtaatgaa gcgccttcta agtcagaatt 360
 tccctgcaat ggtgtggct gattcaataa aaattaagaa taataaatat aatggaaaaa 420
 aatctccact gattgagtgt ttacttggtg ccaagcacta tgctaaatgg ttcattattt 480
 tatttaattt ttacagcaat tttagttagt catcttcac tattttataa gtggaaaaga 540
 gaagtgcctt caaaaagttt gagctcaaac agcagcttat tctaccagcc cctgctctt 600
 cggaggccctc tggaaaagac ctgaatgaca cctattggag aatcacatct acaagggct 660
 tcaaacagac caaatagatc atcacctctg tggcccttg ttaactatat gttctgagac 720
 aaaggaaagc taccctaagg gttagttAAC ctttgcttag gaaatttaca ttcatactt 780
 gagtgaatta ctcaggtgt cttaggtgt caaaaggaa ggagacctga attcaccaag 840
 tttaatcttgc taaaaccta tcataagcat ttgtttagcctt cttagcatac accaagcctt 900
 gtgaaagggtg ctttcctgcc atatctcatt taatcctcac accaaaccta tagaatatgg 960
 cattatcgtc tgagtctcac agaagtttag tcgtgtactc aaggcttac cagctagtga 1020
 acagcagacc aagactgaa acccaggata gtctgatacc tgagccatct cttcttgtc 1080
 tacccctagt tattctgtcc cccaaatcaa aaggcatgac ctttataaga ggcccttac 1140
 tgacaatagc tgcaattttt actttgaaaaa tgattcagaa ttatcaaaga tagtagattt 1200
 gaatgacatg attgtctata atctcgctag ctttgactg tggtgtcata gcaattacag 1260
 ggaagtaatc tagctcctga ctattatgtc gaactatgtc gctgctttt acaaacttgt 1320
 cttgatccaa agcagtccaca atgataaccc tgcatatctg ggaatcataa gtcaactatg 1380
 tatccctgtg tttgtatata tatgtatgtt tgatcttatt ttcaaaactgt gatttaat 1440
 tttaatattt ctaactgccccat ttttgcact gaaaaactac acatgaggaa acgtctttaga 1500
 attttccaat agaggaaaaaa taacacttgg gcaatctgtc atgtttcaca acagttctca 1560
 ttttctcat gatttgcgtt gctggaaatg tggttgcata atgtgaaggg ttccatttgc 1620
 tcaatttctc tttgtaaatggc tttccctaa ggtataaaac catcagcaaa gtc 1673

<210> 8
 <211> 1712
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (485)..(1249)

<400> 8

ctcacgcagc caacatggct ccagtggagc acgttgtggc ggatgctggg gctttccctgc 60
 ggcatgcggc tctgcaggac atcgggaaga acatttacac catccggag gtggtcactg 120
 agattcggga caaggccaca cgccaggccgc tcgctgtcct gccctacgag ctgcgggtca 180
 aggagccctt accggaaatac gtgcggctgg tgactgagtt ttcaaaagaaa acaggagact 240
 accccagccct ctctgcccacg gacatccaag tggtgcactc acataccagt tggaagcaga 300
 gtttgttggg gtgtctcacc taaaacaaga accacagaag gttaaggtga gctcatcgat 360
 tcagcaccca gaaacaccc tcgacatttc tggttccat ctgccttaca agcctaaacc 420
 cccacaagaa acagaaaaag gacactcagc ttgtgagccct gagaacctgg aatttagttc 480
 cttcatgttc tggagaaacc ctttgcctaa catcgtatcat gaactgcagg agctgctgat 540

10/175

tgacagaggt gaggacgttc caagtgagga ggaggaggag gaagaaaacg gtttgaaga 600
 cagaaaagat gacagcgatg acgacgggg tggctggata acccccagta acatcaagca 660
 gatccagcag gagctggagc agtgtgacgt ccccgaggac gtgcgggtt gctgcctgac 720
 cacagacttc gccatgcaga atgttctgct gcagatgggg ctgcacgtgc tggcgggtcaa 780
 cggcatgctg attcgtgagg cccggagcta catcttcgcg tgcgcattggct gtttcaagac 840
 aacgtctgac atgagccgag tttctgctc acactgtggg aacaagacc tgaagaaagt 900
 gtccgtgacc gtcagcgacg acggcaccc gcacatgcac ttctccgcac accccaaggt 960
 gctgaacccc cgccgcctcc ggtactcgct tcccactccc aaaggggca aatacgccat 1020
 caaccccat ctcaccgagg atcagcgctt ccctcagctg cgactctccc aaaaggccag 1080
 gcagaaaaacc aacgtgttcg cccctgacta catgcgcggg gtgtcaccct ttgtcgagaa 1140
 tgacatctcc agccgctcag ctaccctgca ggtccgggac agcaccttg gagctggcgc 1200
 gagacgctta aatcccaacg cttccagaaa gaagtttgc aagaaaaggt gaagagcgc 1260
 ttcccgagg caaattggat gggcgtctgg cgcgcgtgga gttccggtag cccatttccc 1320
 cagccgtgtc gtctccagga ccacccgatg gaaataacag gccccgttca cggtgccgc 1380
 ctgtccgccc atgccccgct gggctgcag ggaactggac tgtcccatgg cctgtgagca 1440
 ccggagcgcc tggctgcctg ccaaggaagt gcaattgcatt aaaaacagaa agaacaacgc 1500
 cctggagcca atcttcaaga aaggaatttc caaaggataa tattttctata ataaatgcgg 1560
 ctgcaacctc ctgtgcattt aattaaatag gccaaatttt tgctgcattt gtcatctcaa 1620
 ggctgatact tgagctgtgt gcccagagat catgcattt gatttatatt tttgcagaa 1680
 aatacaaggt tataataaaa ctaagaacta cc 1712

<210> 9

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met	Phe	Trp	Arg	Asn	Pro	Leu	Pro	Asn	Ile	Asp	His	Glu	Leu	Gln	Glu	
1									5		10			15		
Leu	Leu	Ile	Asp	Arg	Gly	Glu	Asp	Val	Pro	Ser	Glu	Glu	Glu	Glu		
									20		25			30		
Glu	Glu	Asn	Gly	Phe	Glu	Asp	Arg	Lys	Asp	Asp	Ser	Asp	Asp	Asp	Gly	
								35		40			45			
Gly	Gly	Trp	Ile	Thr	Pro	Ser	Asn	Ile	Lys	Gln	Ile	Gln	Gln	Glu	Leu	
								50		55			60			
Glu	Gln	Cys	Asp	Val	Pro	Glu	Asp	Val	Arg	Val	Gly	Cys	Leu	Thr	Thr	
								65		70			75		80	
Asp	Phe	Ala	Met	Gln	Asn	Val	Leu	Leu	Gln	Met	Gly	Leu	His	Val	Leu	
								85		90			95			
Ala	Val	Asn	Gly	Met	Leu	Ile	Arg	Glu	Ala	Arg	Ser	Tyr	Ile	Leu	Arg	
								100		105			110			
Cys	His	Gly	Cys	Phe	Lys	Thr	Thr	Ser	Asp	Met	Ser	Arg	Val	Phe	Cys	
								115		120			125			
Ser	His	Cys	Gly	Asn	Lys	Thr	Leu	Lys	Lys	Val	Ser	Val	Thr	Val	Ser	
								130		135			140			
Asp	Asp	Gly	Thr	Leu	His	M	t	His	Phe	Ser	Arg	Asn	Pro	Lys	Val	Leu
								145		150			155		160	

Asn Pro Arg Gly Leu Arg Tyr Ser Leu Pro Thr Pro Lys Gly Gly Lys			
165	170	175	
Tyr Ala Ile Asn Pro His Leu Thr Glu Asp Gln Arg Phe Pro Gln Leu			
180	185	190	
Arg Leu Ser Gln Lys Ala Arg Gln Lys Thr Asn Val Phe Ala Pro Asp			
195	200	205	
Tyr Ile Ala Gly Val Ser Pro Phe Val Glu Asn Asp Ile Ser Ser Arg			
210	215	220	
Ser Ala Thr Leu Gln Val Arg Asp Ser Thr Leu Gly Ala Gly Arg Arg			
225	230	235	240
Arg Leu Asn Pro Asn Ala Ser Arg Lys Lys Phe Val Lys Lys Arg			
245	250	255	

<210> 10

<211> 1993

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (13)..(981)

<400> 10

ccagattacc tgaatgcagct gatgaacgac aagaagctca tgaggcagcc gcccaacttc 60
 tgcgggatct tcaaccacct cgagcggctg ctggacgaag aaatttagcag agtacggaaa 120
 gacatgtaca atgacacatt aaatggcagt acagagaaaa ggagtgcaga attgcctgat 180
 gctgtggac ctattgttca ttacaagag aaactttatg tgccctgtaaa agaataacca 240
 gatttaatt ttgttggag aatcccttgga cctagaggac ttacagccaa acaacttgaa 300
 gcagaaaaccg gatgtaaaat catggtccga ggcaaaggct caatgaggaa taaaaaaaaag 360
 gagggagcaaa atagaggcaa gcccaattgg gagcatctaa atgaagattt acatgtacta 420
 atcactgtgg aagatgcctca gaacagagca gaaatcaaatt tgaagagagc agttgaagaa 480
 gtgaagaaat tatttgttacc tgcagcagaa ggagaagaca gcctgaagaaa gatgcagctg 540
 atggagcttgc cgattctgaa tggcacctac agagatgccaa acattaaatc accagccctt 600
 gcctttctc ttgcagcaac agcccaggct gctccaagga tcattactgg gcctgcgcgg 660
 gttctccac cagctgcctt gcgtactcct acgcccagctg gccctaccat aatgcctttg 720
 atcagacaaa tacagacccgc tgtcatgccaa aacggaaactc ctcacccaaac tgctgcaata 780
 gttcctccag ggcccgaagc tggtttatac tatacacccct atgagtaccc ctacacattt 840
 gcaccagcta catcaatcct ttagtatcctt attgaaccta gtggtgtatt aggtgcgggt 900
 gctactaaag ttgcaggca cgtatgcgt gtccatcctt accaaaggat tgtgaccgca 960
 gaccggccg ccaccggcaa ctaacctatg accttctgac ctctgaactc ttcacccaaat 1020
 gatgacactga ccatgcctgc ctgtgtatca gtttaactggt aatgccttt gcttgcctgt 1080
 cgtcagtgcgca gcgagctgag gcacttgcctt gttcgcttta ccatctaacc aaacaaaaga 1140
 caaagaaaatt gttgtcccttcc aactcagctt tttttttttt tttttcctgt ttgggtgaaa 1200
 gtgggtcttag aactgcact gaatagttagt aaagcaataa ggcccaattc atcccacagc 1260
 actgatcatc tttaataatc ccaccctaag cgaacggtaa gaaggcctct cttaaagaagg 1320
 ggagacagat ggtccttaac tactcaatga cagaggcagt tactgtgaga gacttctagg 1380
 aatcttttc ttctcatagc gaagtcaaag ctctctctga atgtactgtg tgatgatgca 1440

12/175

tcatgcata accttcggc agggatata ttggtaagt gattcaaaa agtattcaaa 1500
 atttgatatg ctgttagtc actacagtgc cctcaaaggc cagaagttgc agccttttt 1560
 atattgcctg cccaaatttg aagtattaga agaaagtgtc ccatgagaga aaaacttaag 1620
 gagttttgaa aagtaatgca aataacaaaaa ctgcaacact atttttaaaa agataaaatat 1680
 ctgagttaaa attackaat ctttattta cacctaaaaa aatatgagaa caaggatcat 1740
 gcattatgtc tcacattact gggcaaaactg ttcaagtatt ttttttaaaa cctccctgtc 1800
 tagaaaaaaaaa tcattaagga tgtaaaagcc atgcttgccct atttgctgtc tacatgtat 1860
 gaaattgttag ataaagtgtc gtgcattgaa acaaatgaac aaaaagttaga tactttact 1920
 atacaagggt gctggtgcag aaaaaatata atatattttt gaaaaatgttag cattttatac 1980
 tttcaagtgt tat 1993

<210> 11
 <211> 323
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11
 Met Gln Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Met Ser Ser Leu Pro Asn Phe
 1 5 10 15
 Cys Gly Ile Phe Asn His Leu Glu Arg Leu Leu Asp Glu Glu Ile Ser
 20 25 30
 Arg Val Arg Lys Asp Met Tyr Asn Asp Thr Leu Asn Gly Ser Thr Glu
 35 40 45
 Lys Arg Ser Ala Glu Leu Pro Asp Ala Val Gly Pro Ile Val Gln Leu
 50 55 60
 Gln Glu Lys Leu Tyr Val Pro Val Lys Glu Tyr Pro Asp Phe Asn Phe
 65 70 75 80
 Val Gly Arg Ile Leu Gly Pro Arg Gly Leu Thr Ala Lys Gln Leu Glu
 85 90 95
 Ala Glu Thr Gly Cys Lys Ile Met Val Arg Gly Lys Gly Ser Met Arg
 100 105 110
 Asp Lys Lys Glu Glu Gln Asn Arg Gly Lys Pro Asn Trp Glu His
 115 120 125
 Leu Asn Glu Asp Leu His Val Leu Ile Thr Val Glu Asp Ala Gln Asn
 130 135 140
 Arg Ala Glu Ile Lys Leu Lys Arg Ala Val Glu Glu Val Lys Lys Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Pro Ala Ala Glu Gly Glu Asp Ser Leu Lys Lys Met Gln Leu
 165 170 175
 Met Glu Leu Ala Ile Leu Asn Gly Thr Tyr Arg Asp Ala Asn Ile Lys
 180 185 190
 Ser Pro Ala Leu Ala Phe Ser Leu Ala Ala Thr Ala Gln Ala Ala Pro
 195 200 205
 Arg Ile Ile Thr Gly Pro Ala Pro Val Leu Pro Pro Ala Ala Leu Arg
 210 215 220
 Thr Pro Thr Pro Ala Gly Pro Thr Ile Met Pro Leu Ile Arg Gln Ile
 225 230 235 240

Gin Thr Ala Val Met Pro Asn Gly Thr Pro His Pro Thr Ala Ala Ile
 245 250 255
 Val Pro Pro Gly Pro Glu Ala Gly Leu Ile Tyr Thr Pro Tyr Glu Tyr
 260 265 270
 Pro Tyr Thr Leu Ala Pro Ala Thr Ser Ile Leu Glu Tyr Pro Ile Glu
 275 280 285
 Pro Ser Gly Val Leu Gly Ala Val Ala Thr Lys Val Arg Arg His Asp
 290 295 300
 Met Arg Val His Pro Tyr Gin Arg Ile Val Thr Ala Asp Arg Ala Ala
 305 310 315 320
 Thr Gly Asn

<210> 12

<211> 1570

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (101)..(1147)

<400> 12

acgatttgaa cgctctgcct tgcagctctt ctggaccgag gagcccaaag ccctaccctc 60
 accattcacc aggttacagt tcttatccac gtgaatacac atggctctgt tacaaaaat 120
 taatcaggtg ctgctgttcc ttctgatcggt gaccctctgt gtgattctgt ataagaaaatg 180
 tcataagggg actgtgccca agaatgacac agatgatgaa tccgagactc ctgaagaact 240
 ggaagaagag attcctgtgg tgatttgtgc tgcagcaggg aggatgggtg ccactatggc 300
 tgccatcaat agcttctaca gcaacactga cgccaaacatc ttgttctatg tagtggact 360
 ccggaataact ctgactcgaa tacaaaaatg gattgaacat tccaaactga gagaataaaa 420
 cttaaaaatc gtggaattca acccgatggt cctcaaaggaa aagatcagac cagactcatc 480
 gaggcctgaa ttgctccagc ctgtgaactt tgttcgattt tatctccctc tacttatcca 540
 ccaacacgag aaagtcatct atttggacga ttagttaattt gtacaagggtt atatccaaga 600
 actgtatgac accaccttgg ccctgggcca cgcggggct ttctcagatg actgcgattt 660
 gcccctctgct caggacataa acagactcgt gggacttcag aacacatata tggcttatct 720
 ggactaccgg aagaaggcca tcaaggacct tggcatcagc cccagcacct gctttcga 780
 tcctgggtgtg atttgtgcca acatgacaga atggaagcac cagcgcatac ccaagcaatt 840
 ggagaaaatgg atgaaaaaga atgtggagga aaacctctat agcagctccc tgggaggagg 900
 ggtggccacc tccccatgc tgattgtgtt tcatggaaa tattccacaa ttaacccct 960
 gtggcacata aggcacctgg gctggaatcc agatgccaga tattcggagc atttctgca 1020
 ggaagctaaa ttactccact ggaatggaag acataaacct tgggacttcc ctagtgttca 1080
 caacgactta tgggaaagct ggtttgttcc tgaccctgca gggatattta aactcaatca 1140
 ccatagctga tataactcta ccctaaaaat attccctgtt tagaaatgtt gaattgtccc 1200
 ttttagcca actataacat tttctttat gaatattacc tttgatacat atgatccaca 1260
 atataaaaac caaaaactac tggatgcaaa ttataccttgg gaccatatacg gcattgatta 1320
 acttctttaa gtacatgtga taactatggaa aatcaagatt atgtgactga aaaacataaaa 1380
 ggaagagacc catctagatac acagcaatca acctgcttaa ttctgaatga caattatatc 1440

14/175

cacaatttt taaaactct acatgtattt ttcacatgaa gatctccta acaggttgcc 1500
 aacctttct ttataaaaac tattacattt aaaatatgga cgtctgaaaa ataaaatatt 1560
 catcattttt 1570

<210> 13
 <211> 349
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 13
 Met Ala Leu Leu Arg Lys Ile Asn Gln Val Leu Leu Phe Leu Leu Ile
 1 5 10 15
 Val Thr Leu Cys Val Ile Leu Tyr Lys Lys Val His Lys Gly Thr Val
 20 25 30
 Pro Lys Asn Asp Thr Asp Asp Glu Ser Glu Thr Pro Glu Glu Leu Glu
 35 40 45
 Glu Glu Ile Pro Val Val Ile Cys Ala Ala Ala Gly Arg Met Gly Ala
 50 55 60
 Thr Met Ala Ala Ile Asn Ser Phe Tyr Ser Asn Thr Asp Ala Asn Ile
 65 70 75 80
 Leu Phe Tyr Val Val Gly Leu Arg Asn Thr Leu Thr Arg Ile Arg Lys
 85 90 95
 Trp Ile Glu His Ser Lys Leu Arg Glu Ile Asn Phe Lys Ile Val Glu
 100 105 110
 Phe Asn Pro Met Val Leu Lys Gly Lys Ile Arg Pro Asp Ser Ser Arg
 115 120 125
 Pro Glu Leu Leu Gln Pro Leu Asn Phe Val Arg Phe Tyr Leu Pro Leu
 130 135 140
 Leu Ile His Gln His Glu Lys Val Ile Tyr Leu Asp Asp Asp Val Ile
 145 150 155 160
 Val Gln Gly Asp Ile Gln Glu Leu Tyr Asp Thr Thr Leu Ala Leu Gly
 165 170 175
 His Ala Ala Ala Phe Ser Asp Asp Cys Asp Leu Pro Ser Ala Gln Asp
 180 185 190
 Ile Asn Arg Leu Val Gly Leu Gln Asn Thr Tyr Met Gly Tyr Leu Asp
 195 200 205
 Tyr Arg Lys Ala Ile Lys Asp Leu Gly Ile Ser Pro Ser Thr Cys
 210 215 220
 Ser Phe Asp Pro Gly Val Ile Val Ala Asn Met Thr Glu Trp Lys His
 225 230 235 240
 Gln Arg Ile Thr Lys Gln Leu Glu Lys Trp Met Gln Lys Asn Val Glu
 245 250 255
 Glu Asn Leu Tyr Ser Ser Ser Leu Gly Gly Gly Val Ala Thr Ser Pro
 260 265 270
 Met Leu Ile Val Phe His Gly Lys Tyr Ser Thr Ile Asn Pro Leu Trp
 275 280 285
 His Ile Arg His Leu Gly Trp Asn Pro Asp Ala Arg Tyr Ser Glu His

290	295	300
Phe Leu Gln Glu Ala Lys Leu Leu His Trp Asn Gly Arg His Lys Pro		
305	310	315
Trp Asp Phe Pro Ser Val His Asn Asp Leu Trp Glu Ser Trp Phe Val		
	325	330
Pro Asp Pro Ala Gly Ile Phe Lys Leu Asn His His Ser		
	340	345

<210> 14
<211> 1962
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (213)..(938)

<400> 14

```

agtgcgcata cggacgtagg aggtggaggt tgtggaattc gccgttcgaa agcagggact 60
aaaagcccca ctctcgatcg cttccgaaa ggaaggcgta tggatggcct ttcttcgt 120
cggtggag cggtcgacgg cgtcgaaag tcctgatgg aggcttgcgg gatccccc 180
ggagaaagcg caggctaaag ccgcaggta agatgtccaa ctacgtaaac gacatgtggc 240
cgggctcgcc gcaggagaag gattcgccct cgacctcgcg gtcggcgccc tccagccggc 300
tgtcgatcg cgatcgatcg ccagaagctc tcgggtccat tccccgtct 360
cgagccgtt ttcgtccagg agtccggagga gcaagtcggat gtcccggtcc cgaaggcgcc 420
accagcgaa gtacaggcgcc tactcgccgt catactcgcg gagccggctcg cgatcccgca 480
gccggcgta ccgagagagg cgctacgggt tcaccaggag atactaccgg ttccttcg 540
ggtagccgtc ccgggtccgt agcaggtcgcc gctctcgaaa aaggtcgatc tgccggaaagg 600
cgatcgatcg cgcgcggggc cagcgctact acggcttgg tcgcacatgt taccggagg 660
agcacagcag atggagggac agatcccgaa cgaggtcgcc gagcagaacc cccttcgt 720
taatgtaaaa agatcgatcg gagctgttag aaatagccaa aaccaatcgca gcaagactc 780
taggaacaac caacattgtac ttgcgtccat gtctcagaac tggatggccttca gccaagaaa 840
caagccgtgg aatagggtgtc tcaagtaatgt gtccaaagcc tgaagtaatgt attcttaggtt 900
tgtcgatcgaa aactttcgaa aacccaaact gtccaaatcg attagccact tatatcttag 960
actatactt ttggaaatgc tagagatgtc tataatgtc taaatccaa gtagccaaatc 1020
tgaagatagg caatgtccaa cccatgaaaa tggagatgtc atgagcttta tttggccgt 1080
catgtcgatcg catgcgtgtc atgaggcgaa tggcttgatgt ccaggatgtc aagactagcc 1140
tggccatgt ggccaaatcg cgtgtttaca aaaaatccaa aaatttgcgc ggcattgtgg 1200
tgcgtccatgt tagtcccgac tggatggcgt gctgaggcgag gaggatctt ggccttaggt 1260
tgctaaatgtt gcaatgtgtc aagatggcgtc cattgcgttgc tagccgtggc agcagagcgt 1320
gaccgtgtt caaaaaaaaatcg atttattttt ttcattttca gttaaatgtt tactcttata 1380
acaccgttat tagtggatcg tttggatgtc tctattacta gtttttctaa gctatttata 1440
gagttttgtt agctttcatt tgcgtgttgc tggatggcgtc aatttgcgttgc tgcgtatgtt 1500
cagtatgtt tatctgtgtt atttctgttgc tatagaaaatcg atgaaatgtgg tctgcgtatgtt 1560
ttgatgttgc aatctgttg gtaattgttgc tggatggcgtc aatgttgcgtt gttaaatgtt 1620
aagtttatgtt tcacacactg aaaacttagt tttttgttg gtagatccat gtcgtatgtt 1680
gaatttggatcg caggcactat ttgcataaag tattaaatgtt aatttttaaaa ctaagccaaatcg 1740

```


gtacacgttg taacggggg gcatctgtga aaaagatgtc ccttcataa tatatgcaat 1800
 atattccaga tgtttgaga gattacagaa gaggaggcct gtttcaactt cagataagtt 1860
 tattataatt ctccagaaat gtgcaggatg tgcattagca aattgactg tactttcac 1920
 tccagcctgg gtgacagagc aagactcccc tctcgaaaa tt 1962

<210> 15
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 15
 Met Ser Asn Tyr Val Asn Asp Met Trp Pro Gly Ser Pro Gln Glu Lys
 1 5 10 15
 Asp Ser Pro Ser Thr Ser Arg Ser Gly Gly Ser Ser Arg Leu Ser Ser
 20 25 30
 Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg Ser Ser Arg Ser His Ser Arg
 35 40 45
 Val Ser Ser Arg Phe Ser Ser Arg Arg Ser Lys Ser Arg Ser
 50 55 60
 Arg Ser Arg Arg Arg His Gln Arg Lys Tyr Arg Arg Tyr Ser Arg Ser
 65 70 75 80
 Tyr Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Arg Tyr Arg Glu Arg
 85 90 95
 Arg Tyr Gly Phe Thr Arg Arg Tyr Tyr Arg Ser Pro Ser Arg Tyr Arg
 100 105 110
 Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Gly Arg Ser Tyr Cys Gly
 115 120 125
 Arg Ala Tyr Ala Ile Ala Arg Gly Gln Arg Tyr Tyr Gly Phe Gly Arg
 130 135 140
 Thr Val Tyr Pro Glu Glu His Ser Arg Trp Arg Asp Arg Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 Arg Ser Arg Ser Arg Thr Pro Phe Arg Leu Ser Glu Lys Asp Arg Met
 165 170 175
 Glu Leu Leu Glu Ile Ala Lys Thr Asn Ala Ala Lys Ala Leu Gly Thr
 180 185 190
 Thr Asn Ile Asp Leu Pro Ala Ser Leu Arg Thr Val Pro Ser Ala Lys
 195 200 205
 Glu Thr Ser Arg Gly Ile Gly Val Ser Ser Asn Gly Ala Lys Pro Glu
 210 215 220
 Val Ser Ile Leu Gly Leu Ser Glu Gln Asn Phe Gln Lys Ala Asn Cys
 225 230 235 240
 Gin Ile

<210> 16
 <211> 3553

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1699)..(2994)

<400> 16

aggggcgggc gcgccgctgc atccccatcc tcgtcgctgc ccggcacagc gcgagcgggc 60
gagcggcgcg ggcggccgga gcgccgaggc ccggccatgg ccaccacca caccacgggc 120
tccaccctgc tgcagccccc cagcaacgccc gtgcagctgc ccatacgacca ggtcaacttt 180
gtagtgtgcc aactcttgc cttgcttagca gccatttggt ttcaactta tctacattca 240
agcaaaaacta gctctttat aagacatgt a gttgctaccc tttgggcct ttatcttgca 300
ctttttgct ttggatgtta tgccttacac tttcttgtaaa aaagtggaaat ttccctactgt 360
atcatgatca tcataggagt ggagaacatg cacaattact gctttgtgct gatgaatccc 420
ctaattgattt tggtaaaaat cattaaggta aggtggatac acatcttgc atatgatcaa 480
atggtttcgc gaaaaatcaa taatcagaca acaagatgtg cgaactcgat attttacacg 540
actctcttta ccaattctgc cccgaattac acttaaaacg actcaacacg ttaacgttgg 600
cttggcacgc attacttgc tgtaaaaactc tcactcttac cgaacttggc cgtaacctgc 660
caaccaaaagc gagaacaaaa cataacatca aacgaatcga ccgattgtta ggtaatcg 720
acctccacaa agagcgactc gctgtatacc gttggcatgc tagctttatc tgttcggca 780
atacgtgcc cattgtactt gttgacttgt ctgatattcg ttagcaaaaa cgacttatgg 840
tattgcgagc ttcaagtgc ca ctacacggc gttctgttac tctttatgaa aagcgttcc 900
cgctttcaga gcaatgttca aagaagctc atgaccaatt tctagccgac cttgcgagca 960
ttctaccgag taacaccaca cgcctcattt tcagtgtatgc tggctttaa gtgccatgg 1020
ataaaatccgt tgagaagctg ggttggact ggttaatgtc agtaagagga aaagtacaat 1080
atgcagacct aggagcgaaa aactggaaaac ctatcagcaa cttacatgt atgtcatcta 1140
gtcactcaaa gacttttaggc tataagaggg tgactaaaaa caatccaatc tcatgcca 1200
ttctattgtt taaatctgc tctaaaggcc gaaaaaatca ggcgtcgaca cggactcatt 1260
gtcaccaccc gtcacccaaa atctactcag cgtcggcaaa ggagccatgg gttctagcaa 1320
ctaacttacc ttttggaaatt cgaacacccca aacaacttgt taatatctat tcgaagcgaa 1380
tgcagattga agaaacccctc cgagacttgc aaagtccctgc ctacggacta ggcctacg 1440
atagccgaac gagcagctca gaggctttt atatcatgt gctaattcgcc ctgatgttcc 1500
aactaacatg ttggcttgc ggcgttcatg ctcagaaaaca aggttggac aagcacttcc 1560
aggctaacac agtcagaaat cgaacacgtac tctcaacagt tcgcttaggc atggaaatgg 1620
tgcggcattc tggctacaca ataacaagg aagacttact cgtggctgc accctactag 1680
ctaaaaattt attcacacat ggttacgctt tggggaaatt atgagggat ctctcagtgc 1740
tttggtttg ctctggata cctcacagtgc tgccaaatgc ctgcagttca tatctttgac 1800
tatggacaat attctgctga ttttcaggc ccaatgtatca tcattactca gaagatca 1860
agttggctt gcgaaattca tggatggatg tttcgaaagg atgaaact gacttcctca 1920
cagagggatt tagctgtaa ggcgtatgcca agcttactgg agtatttgat ttacaactgt 1980
aacttcatgg ggatcctggc agggccactt tgctttaca aagactacat tactttcatt 2040
gaaggcagat cataccatata cacacaatct ggtgaaaatg gaaaagaaga gacacagtat 2100
gaaagaacag agccatctcc aaatactgcg gttgttcaga agctttagt ttgtggcgt 2160
tccttgcattt ttcaacttgc catctgtaca acattacctg tggagttacaa cattgatgag 2220
cattttcaag ctacagcttc gtggccaaaca aagattatct atctgtatat ctctttttg 2280
gctgccagac ccaaatacta ttttgcattgg acgctagctg atgcccattaa taatgctgca 2340
ggctttgggtt tcagagggtt tgacgaaaat ggagcagctc gctggacatc aatttccaaat 2400



ttgagaattc aacaaataga gatgtcaaca agtttcaaga tggttcttga taatggaaat 2460
 attcagacag ctctttggct caaaagggtg tggttatgaac gaacctccct cagtccaact 2520
 atccagacgt tcattcttc tgccatttgg cacgggtat acccaggata ttatctaacg 2580
 tttctaacag gggtgttaat gacattagca gcaagagcta tgagaaataa ctttagacat 2640
 tatttcattt aaccttccca actgaaatta ttttatgtatg ttataacatg gatagtaact 2700
 caagtagcaa taagttacac agttgtgcc tttgtgcctc ttctataaaa accatcactc 2760
 acgttttaca gctcctgta ttattgcctg cacattctt gatatcttagt attattgtt 2820
 ttgcaggatga aaaaaactca aagaagaaaag aatacacatg aaaacattca gctctcacaa 2880
 tccagaaagt ttgtatgaagg agaaaattct ttgggacaga acagtttttc tacaacaaac 2940
 aatgtttgca atcagaatca agaaatagcc tcgagacatt catcactaaa gcagtgtcg 3000
 ggaaggctct gagggctgtt tttttttt atgttaacag aaaccaatct tagcacctt 3060
 tcaaggggtt tgagtgtttt ggaaaagcag ttaactgggg gggaaatggac agttatagat 3120
 aaggaatttc ctgtacacca gattggaaat ggagtggaaac aagccctccc atgccatgtc 3180
 cccgtgggcc acgcctttagt taagaatatt tccatatttc agtgggcact cccaaacctca 3240
 gcacttgcac gttagggtcac acgcgtgccc tgggtctgaa tggatgttg tggatccaaag 3300
 gcactgaaga ggtggaaaaa taatcgtgtc aatctggatg atagagagaa attaactttt 3360
 ccaaataaat gtcttgcctt aaaccctcta ttccctaaaa tatttttcctt aatgttatt 3420
 ttcaagtgtt atattgttag aacgctactg cagtagttga tggatgttg tggatggat 3480
 tttaggagga atttggaaaca ggatatttaa gggatgtggat atttttaaaa tgcaataaaac 3540
 atctcagttt ttg 3553

<210> 17
 <211> 432
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 Met Val Thr Leu Trp Gly Asn Tyr Glu Gly Ile Ser Gln Cys Phe Val
 1 5 10 15
 Phe Ala Leu Gly Tyr Leu Thr Val Cys Gln Val Thr Arg Val Tyr Ile
 20 25 30
 Phe Asp Tyr Gly Gln Tyr Ser Ala Asp Phe Ser Gly Pro Met Met Ile
 35 40 45
 Ile Thr Gln Lys Ile Thr Ser Leu Ala Cys Glu Ile His Asp Gly Met
 50 55 60
 Phe Arg Lys Asp Glu Glu Leu Thr Ser Ser Gln Arg Asp Leu Ala Val
 65 70 75 80
 Arg Arg Met Pro Ser Leu Leu Glu Tyr Leu Ser Tyr Asn Cys Asn Phe
 85 90 95
 Met Gly Ile Leu Ala Gly Pro Leu Cys Ser Tyr Lys Asp Tyr Ile Thr
 100 105 110
 Phe Ile Glu Gly Arg Ser Tyr His Ile Thr Gln Ser Gly Glu Asn Gly
 115 120 125
 Lys Glu Glu Thr Gln Tyr Glu Arg Thr Glu Pro Ser Pro Asn Thr Ala
 130 135 140
 Val Val Gln Lys Leu Leu Val Cys Gly Leu Ser Leu Leu Phe His Leu
 145 150 155 160

19/175

Thr Ile Cys Thr Thr Leu Pro Val Glu Tyr Asn Ile Asp Glu His Phe
 165 170 175
 Gln Ala Thr Ala Ser Trp Pro Thr Lys Ile Ile Tyr Leu Tyr Ile Ser
 180 185 190
 Leu Leu Ala Ala Arg Pro Lys Tyr Tyr Phe Ala Trp Thr Leu Ala Asp
 195 200 205
 Ala Ile Asn Asn Ala Ala Gly Phe Gly Phe Arg Gly Tyr Asp Glu Asn
 210 215 220
 Gly Ala Ala Arg Trp Asp Leu Ile Ser Asn Leu Arg Ile Gln Gln Ile
 225 230 235 240
 Glu Met Ser Thr Ser Phe Lys Met Phe Leu Asp Asn Trp Asn Ile Gln
 245 250 255
 Thr Ala Leu Trp Leu Lys Arg Val Cys Tyr Glu Arg Thr Ser Phe Ser
 260 265 270
 Pro Thr Ile Gln Thr Phe Ile Leu Ser Ala Ile Trp His Gly Val Tyr
 275 280 285
 Pro Gly Tyr Tyr Leu Thr Phe Leu Thr Gly Val Leu Met Thr Leu Ala
 290 295 300
 Ala Arg Ala Met Arg Asn Asn Phe Arg His Tyr Phe Ile Glu Pro Ser
 305 310 315 320
 Gln Leu Lys Leu Phe Tyr Asp Val Ile Thr Trp Ile Val Thr Gln Val
 325 330 335
 Ala Ile Ser Tyr Thr Val Val Pro Phe Val Leu Leu Ser Ile Lys Pro
 340 345 350
 Ser Leu Thr Phe Tyr Ser Ser Trp Tyr Tyr Cys Leu His Ile Leu Gly
 355 360 365
 Ile Leu Val Leu Leu Leu Pro Val Lys Lys Thr Gln Arg Arg Lys
 370 375 380
 Asn Thr His Glu Asn Ile Gln Leu Ser Gln Ser Arg Lys Phe Asp Glu
 385 390 395 400
 Gly Glu Asn Ser Leu Gly Gln Asn Ser Phe Ser Thr Thr Asn Asn Val
 405 410 415
 Cys Asn Gln Asn Gln Glu Ile Ala Ser Arg His Ser Ser Leu Lys Gln
 420 425 430

<210> 18

<211> 1031

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (102)..(734)

<400> 18

```

gggttgagcg ggaggcgcga tcggtccggt cggtggtctcc cccgcggcgaaa gcccggccccg 60
atctcggcgc ggaaccgagc gcagagccgg tagcggaaag gatgaccacg ctcacacgac 120

```


20/175

aagaccta	cttggccaa	gtggggccg	atgtgctcg	cgagttcctg	gagggtggctg	180
tgcatctcat	cctctacgtg	cgcgaggtct	accccgtgg	catcttccag	aaacgcaaga	240
agtacaacgt	gccggtccag	atgtcctgccc	acccggagct	gaatcagttat	atccaggaca	300
cgctgcactg	cgtcaagcca	ctcctggaga	agaatgtatgt	ggagaaaagtg	gtgggtgtga	360
ttttggataa	agagcacccgc	ccagtgggaga	aattcgtctt	tgagatcacc	cagcctccac	420
tgctgtccat	cagctcagac	tcgctgttgt	ctcatgtgga	gcagctgctc	cgggccttca	480
tcctgaagat	cagcgtgtgc	gatgcgttcc	ttgaccacaa	ccccccaggc	tgtaccttca	540
cagtcctgggt	gcacacgaga	gaagccgcca	ctcgcaacat	ggagaagatc	caggtcatca	600
aggatttccc	ctggatcctg	gcggatgagc	aggatgtcca	catgcatgac	ccccggctga	660
taccactaaa	aaccatgacg	tcggacattt	taaagatgca	gctttacgtg	gaagagccgc	720
ctcataaaagg	cagctgaggg	ggcacctgcc	accccactga	tgcccaaact	gtcagacttt	780
gggggatccc	cgcctaggc	agtgcgtcat	ggctgcctg	attccaagtg	ctcttatcgc	840
ctctgtgtgt	ggatcgcccc	ccccagcccg	ggcccgctca	ggtctgcttgc	gaggatgcct	900
cccccaggag	ggcagtggagg	gatgcgcgaa	cctcgacttc	tcagcctcct	ggggttccgc	960
cggccaaacac	tgtctgtctc	aaatactgtg	ctgtgagtttgc	tttcaataaaa	ggggccccaa	1020
gggctgggct	g					1031

<210> 19
<211> 211
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 19
 Met Thr Thr Leu Thr Arg Gln Asp Leu Asn Phe Gly Gln Val Val Ala
 1 5 10 15
 Asp Val Leu Cys Glu Phe Leu Glu Val Ala Val His Leu Ile Leu Tyr
 20 25 30
 Val Arg Glu Val Tyr Pro Val Gly Ile Phe Gln Lys Arg Lys Lys Tyr
 35 40 45
 Asn Val Pro Val Gln Met Ser Cys His Pro Glu Leu Asn Gln Tyr Ile
 50 55 60
 Gln Asp Thr Leu His Cys Val Lys Pro Leu Leu Glu Lys Asn Asp Val
 65 70 75 80
 Glu Lys Val Val Val Val Ile Leu Asp Lys Glu His Arg Pro Val Glu
 85 90 95
 Lys Phe Val Phe Glu Ile Thr Gln Pro Pro Leu Leu Ser Ile Ser Ser
 100 105 110
 Asp Ser Leu Leu Ser His Val Glu Gln Leu Leu Arg Ala Phe Ile Leu
 115 120 125
 Lys Ile Ser Val Cys Asp Ala Val Leu Asp His Asn Pro Pro Gly Cys
 130 135 140
 Thr Phe Thr Val Leu Val His Thr Arg Glu Ala Ala Thr Arg Asn Met
 145 150 155 160
 Glu Lys Ile Gln Val Ile Lys Asp Phe Pro Trp Ile Leu Ala Asp Glu
 165 170 175
 Gln Asp Val His Met His Asp Pro Arg Leu Ile Pro Leu Lys Thr Met
 180 185 190

21/175

Thr Ser Asp Ile Leu Lys Met Gln Leu Tyr Val Glu Glu Arg Ala His
 195 200 205
 Lys Gly Ser
 210

<210> 20
<211> 2869
<212> DNA
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (569)..(2170)

<400> 20
cacgaagcag gaaaaggat ctggtaaaac ctaaatatga cctggataga acagatccat 60
tagaaaataa ttatactcca gtctttcg tacctagtat ttcatctgg cactaccctg 120
tacctacttt gagcagca attacagtaa ttgcctctac tcatacatgga aacaacacta 180
ccgaaagttt gtcgaattt catgaagacc aagtggacca taactcttac gtaagaccac 240
ccatgcctaa gaaacgggt agagactatg atgaaaaggg ttttgtatg agaggagaca 300
tgtgtcctt tgatcatgga agtgatccag tagttgtaga agatgtaat cttcctggt 360
tgctgcctt cccagcacag cttctgtt ttgaaggacc acctcctcct ggactcccc 420
cacccacc acctccacc aattcttaca ccccccaccc tgaatctcag gccccagta ccaccgcag 480
gtccattgcc acccagtctc ccacctgtt cagatgatat ttcttattct ttggtttga 540
caggaccacc acctccactt ccagacctat gtatagacac agatgtcatg cacaaggcc 600
caacttgata ggactaacat cagggatat ggatttgcca cccagagaaa agccctccaa 660
taaaagcagt atgaggatag tagtggactc agaatcaagg aaaagaacca ttggttctgg 720
agggcttgg gttcctacaa agaagacttg gtttgataaa ccaaattttt atagaacaaa 780
cagcccaggc ttccagaaga aggttcaatt tggaaatgaa aataccac ttgaacttag 840
aaaagttcct ccagaattaa ataatatcag caaacttaat gaacattttt gtcgatttgg 900
aaccttgggt aacttacagg ttgcttataa tggtgatcct gaaggtgccc taatccaatt 960
tgcaacatac gaagaagcaa agaaagcaat atcaagtacg gaaggcgttat taaacaatcg 1020
ctttattaag gtttattggc acagagaagg aagcacccaa cagttacaaa ctacttctcc 1080
aaaggcttta gtccagcagc ccattttgcc ttgtgtgaag cagtcgtca aagagcggct 1140
gggtccagta cttcaagta ctattgaacc tgcagaagcc cagagigcct cttcagacct 1200
tcctcagggt ttgtctacat ctactggcct aacaaaaaca gtgtataatc cagctgctt 1260
gaaggctgca caggaaaccc tacttggttt cacctctgca gttgataata atgaagcaca 1320
aaaaaaaaaa caggaggcat tgaaacttca gcaggatgta aggaaaagga aacaagaaat 1380
tttagaaaaag cacattgaaa cacagaagat gttatattca aaactggaga aaaacaaaac 1440
aatgaagtct gaagataaaag cagaataat gaaaacttta gaggttttga caaaaatata 1500
taccaagttt aaagatgagg tcaaaagctgc ttctcctggc cgctgtctt caaaaagtat 1560
aaaaaccaag actcagatgc agaagaatt acttgacaca gaactggatt tatataagaa 1620
gatgcaggct ggagaagaag tcactgaact taggagaaag tatacagaat tacagctgga 1680
agctgccaaa cgagggattt tttcatctgg tcggggcaga ggaattcatt caagaggtcg 1740
aggtgcagtt catggccgag gcagggggcg agggcgaggg cgaggtgtgc ctggtcatgc 1800
tgtggtgat caccgtccca gggcatttgg gatttctgca tttacgggaa gttgtcaga 1860
agatcttctt ctcattttt cgcaaatatgg tgaaattgaa gattgtcaga ttgtatgattc 1920

ctcacttcat gcagtaatta catcaagac aagagcagaa gctgaaggcag ctgcagttca 1980
 tggagctgt ttcaaaggc aagatctaaa actggcatgg aataaaccag taactaatat 2040
 ttcagctgtt gaaacagaag aagttgagcc tgatgaagaa gaatttcagg aagagtctt 2100
 ggtggatgac tcattacttc aagatgtatga tgaagaagaa gaggacaatg aatctcggttc 2160
 ttggagaaga tgatttgact gatcattgtatgc tagaactcta cctgtgtttc 2220
 attagtatta tctaattgtac tttacatat ttgtaaaaac aattttggt aaaatgtat 2280
 gaagatggat ttcacaaata gacaaaaaag aagaaaacta ccttctgtatc ttgtatttt 2340
 aaagattgat gtttgcatt tacttcagta aacaattgt aagacatca cactagaaac 2400
 atatgcaatg ttttattac atacttctac tggacatcac agaattctt gggtttctt 2460
 taatttaatg aataggtctg aaaactttag accaataactt gtatataactt agaggactt 2520
 gttttattcc aaataaggaa tgaatttgca tttaaaatct taatgaatgt ttcaaaaact 2580
 gaatagataa catagtactc taactaaagt ctccaagtt ttttattataa tattacatag 2640
 tagtatgctt aggctttact atgtatttagc cttttgttgg actgtgtatg tattttacca 2700
 tatgggtttt aatgataatg gtgtatgact gctttacatg agtcctttagt catccagatg 2760
 ttataataaa gtggaatggt ctctttaaaa aaaaaaaaaagg aaagaaaaga gaaaagcaat 2820
 gacaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcca agacaatgtt ccttgattt 2869

<210> 21
 <211> 534
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 21
 Met Tyr Arg His Arg Val His Ala Gln Arg Pro Asn Leu Ile Gly Leu
 1 5 10 15
 Thr Ser Gly Asp Met Asp Leu Pro Pro Arg Glu Lys Pro Pro Asn Lys
 20 25 30
 Ser Ser Met Arg Ile Val Val Asp Ser Glu Ser Arg Lys Arg Thr Ile
 35 40 45
 Gly Ser Gly Glu Pro Gly Val Pro Thr Lys Lys Thr Trp Phe Asp Lys
 50 55 60
 Pro Asn Phe Asn Arg Thr Asn Ser Pro Gly Phe Gln Lys Lys Val Gln
 65 70 75 80
 Phe Gly Asn Glu Asn Thr Lys Leu Glu Leu Arg Lys Val Pro Pro Glu
 85 90 95
 Leu Asn Asn Ile Ser Lys Leu Asn Glu His Phe Ser Arg Phe Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Asn Leu Gln Val Ala Tyr Asn Gly Asp Pro Glu Gly Ala Leu
 115 120 125
 Ile Gln Phe Ala Thr Tyr Glu Glu Ala Lys Lys Ala Ile Ser Ser Thr
 130 135 140
 Glu Ala Val Leu Asn Asn Arg Phe Ile Lys Val Tyr Trp His Arg Glu
 145 150 155 160
 Gly Ser Thr Gln Gln Leu Gln Thr Thr Ser Pro Lys Pro Leu Val Gln
 165 170 175
 Gln Pro Ile Leu Pro Val Val Lys Gln Ser Val Lys Glu Arg Leu Gly
 180 185 190

Pro Val Pro Ser Ser Thr Ile Glu Pro Ala Glu Ala Gln Ser Ala Ser
 195 200 205
 Ser Asp Leu Pro Gln Val Leu Ser Thr Ser Thr Gly Leu Thr Lys Thr
 210 215 220
 Val Tyr Asn Pro Ala Ala Leu Lys Ala Ala Gln Glu Thr Leu Leu Val
 225 230 235 240
 Ser Thr Ser Ala Val Asp Asn Asn Glu Ala Gln Lys Lys Lys Gln Glu
 245 250 255
 Ala Leu Lys Leu Gln Gln Asp Val Arg Lys Arg Lys Gln Glu Ile Leu
 260 265 270
 Glu Lys His Ile Glu Thr Gln Lys Met Leu Ile Ser Lys Leu Glu Lys
 275 280 285
 Asn Lys Thr Met Lys Ser Glu Asp Lys Ala Glu Ile Met Lys Thr Leu
 290 295 300
 Glu Val Leu Thr Lys Asn Ile Thr Lys Leu Lys Asp Glu Val Lys Ala
 305 310 315 320
 Ala Ser Pro Gly Arg Cys Leu Pro Lys Ser Ile Lys Thr Lys Thr Gln
 325 330 335
 Met Gln Lys Glu Leu Leu Asp Thr Glu Leu Asp Leu Tyr Lys Lys Met
 340 345 350
 Gln Ala Gly Glu Glu Val Thr Glu Leu Arg Arg Lys Tyr Thr Glu Leu
 355 360 365
 Gln Leu Glu Ala Ala Lys Arg Gly Ile Leu Ser Ser Gly Arg Gly Arg
 370 375 380
 Gly Ile His Ser Arg Gly Arg Gly Ala Val His Gly Arg Gly Arg Gly
 385 390 395 400
 Arg Gly Arg Gly Arg Gly Val Pro Gly His Ala Val Val Asp His Arg
 405 410 415
 Pro Arg Ala Leu Glu Ile Ser Ala Phe Thr Gly Ser Asp Arg Glu Asp
 420 425 430
 Leu Leu Pro His Phe Ala Gln Tyr Gly Glu Ile Glu Asp Cys Gln Ile
 435 440 445
 Asp Asp Ser Ser Leu His Ala Val Ile Thr Phe Lys Thr Arg Ala Glu
 450 455 460
 Ala Glu Ala Ala Ala Val His Gly Ala Arg Phe Lys Gly Gln Asp Leu
 465 470 475 480
 Lys Leu Ala Trp Asn Lys Pro Val Thr Asn Ile Ser Ala Val Glu Thr
 485 490 495
 Glu Glu Val Glu Pro Asp Glu Glu Glu Phe Gln Glu Glu Ser Leu Val
 500 505 510
 Asp Asp Ser Leu Leu Gln Asp Asp Asp Glu Glu Glu Glu Asp Asn Glu
 515 520 525
 Ser Arg Ser Trp Arg Arg
 530

<212> DNA

<213> Homo sapiens

220

<221> CDS

$\langle 222 \rangle$ (302), (1243)

<400> 22

gaaggagaagcc cccagccccct tccaggcccct gttctcagat atcccgccca ggtacccgtt 60
ccaaggccctg ccacccgcact acgggaggcc ctacccttc ctgcgtcagc ccacggccgc 120
cgccgacgcg gacggcttgg cccctgatgt gccgctcccg gctgatggc ccgagcgcct 180
ggcactctca cccgaagaca agcccattccg cttgtcccccc tccaagatca cagagccgt 240
gcggggagggc cgggaggaag aaccgctggc tgagcgggag gtgaaggcag aggtggagga 300
catggacgag ggcccccacag agctgccgc tctggagtcg ccgcgtgccac tgcccgcgc 360
ggaagccatg gctacccccc gccctgcagg gggttgtgga ggtggcctgt tggaggccca 420
ggcgctgagt gccaccgggc agagctgcgc agagccctt gagtgtccag actttgtgga 480
ggggcctgaa ccacgggtgg attcccccggg ccggacagaa ccctgcaccg cccgcctgaa 540
cctgggggtg cagctgacac ccgagacact ggcggaggcc aaggaggagc cggtggaggt 600
gcctgtggcg gtgcccgtgg tggagggcgt gcccggagaa ggcctggcgc aggtggcacc 660
gagcgagtcc cagccccaccc tagaaatgtc agactgtgac gtgcccgcg gggagggaca 720
gtgcccggcct ctggagcccc aagaggccgt gcctgtactc ggcagcacct gcttcctgaa 780
agaggcaagc tctgaccagt tcctgcccag tctggaggac ccactggctg gcatgagcgc 840
cctggccggca gtcgggagc tgccccaggg caggcctctg cccctcccggt gtgctgtgg 900
agccccaggcc ttggagaagc tggaagcagc cgagagccct gtcttgagc agagcttcct 960
gcatggccatc accctgctaa gtgagatcgc agagctggag ctggagagga ggagccacc 1020
ccaaggccctc ccacccgtgca tgggacaggg cagcccgatg ccagctggcc tacctgtact 1080
tgccaggggc cctgccccca ccctctcagg atggcttaga cttgggaaac agagccgggt 1140
ggggttgcag cccggagtgt ctgtcaagg caccaggtgg agagggcccg gcacaggccc 1200
accctggtcc aaaccttcac actacagaaaa accccaatgg tgctgaaact gtcggccggc 1260
cacgcctggc ccctccccac ccaggaggga ggtggcactt cttAACCTGT acagtttat 1320
tgtaccaaga gactcgcccc gcccctgtat cataaggcct taaatggagt caactttta 1380
attatatata taaaagataaaa tatatatata tatatatata aactttttaa aactgtgaaa 1440
aatagctatg aaattataaa aaaaaaacat tctgacgtgc agaatattat tttttatttc 1500
ctgttagatt atagtgtcta gcacccggctt caccggccctc ccagtcggccca gcacacccccc 1560
cgcccccccc gccaagtgtt ctgtactcac ccccccaggat agagaagtgt ttgttaggga 1620
gagaagaggg agaggcagga gcccggccaa gcccagggtc cctgcttggg ccccgaaaag 1680
cacttaacca ggcccccaagc cttcaaggga aaccaaggcc tcaaccagac aatcttgagg 1740
gaaggaaaag ccagactttt ggtttgtttt ttggggaaat tattgtttt ttttttttat 1800
gtttcttttg gaattttgtt tggtggcaaa ttctgtgtga tctttttcaaaaaaaaaaa 1860
gaaaagattt aattgg 1876

<210> 23

<211> 314

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

25/175

Met Asp Glu Gly Pro Thr Glu Leu Pro Pro Leu Glu Ser Pro Leu Pro
1 5 10 15
Leu Pro Ala Ala Glu Ala Met Ala Thr Pro Ser Pro Ala Gly Gly Cys
20 25 30
Gly Gly Gly Leu Leu Glu Ala Gln Ala Leu Ser Ala Thr Gly Gln Ser
35 40 45
Cys Ala Glu Pro Ser Glu Cys Pro Asp Phe Val Glu Gly Pro Glu Pro
50 55 60
Arg Val Asp Ser Pro Gly Arg Thr Glu Pro Cys Thr Ala Ala Leu Asp
65 70 75 80
Leu Gly Val Gln Leu Thr Pro Glu Thr Leu Ala Glu Ala Lys Glu Glu
85 90 95
Pro Val Glu Val Pro Val Ala Val Pro Val Val Glu Ala Val Pro Glu
100 105 110
Glu Gly Leu Ala Gln Val Ala Pro Ser Glu Ser Gln Pro Thr Leu Glu
115 120 125
Met Ser Asp Cys Asp Val Pro Ala Gly Glu Gly Gln Cys Pro Ser Leu
130 135 140
Glu Pro Gln Glu Ala Val Pro Val Leu Gly Ser Thr Cys Phe Leu Glu
145 150 155 160
Glu Ala Ser Ser Asp Gln Phe Leu Pro Ser Leu Glu Asp Pro Leu Ala
165 170 175
Gly Met Ser Ala Leu Ala Ala Ala Ala Glu Leu Pro Gln Ala Arg Pro
180 185 190
Leu Pro Ser Pro Gly Ala Ala Gly Ala Gln Ala Leu Glu Lys Leu Glu
195 200 205
Ala Ala Glu Ser Leu Val Leu Glu Gln Ser Phe Leu His Gly Ile Thr
210 215 220
Leu Leu Ser Glu Ile Ala Glu Leu Glu Leu Glu Arg Arg Ser Pro Pro
225 230 235 240
Gln Gly Leu Pro Pro Cys Met Gly Gln Gly Ser Pro Met Pro Ala Gly
245 250 255
Leu Pro Asp Cys Ala Arg Gly Pro Ala Pro Thr Leu Ser Gly Trp Pro
260 265 270
Arg Leu Gly Glu Gln Ser Arg Val Gly Leu Gln Pro Gly Val Ser Val
275 280 285
Lys Gly Thr Arg Trp Arg Gly Pro Gly Thr Gly Pro Pro Trp Ser Lys
290 295 300
Pro Ser His Tyr Arg Lys Pro Gln Trp Cys
305 310

<210> 24
<211> 1907
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (446)..(1087)

<400> 24

ataaggaaaa aaaactccat taaaaagccc agcttcctc catgttagat gtgacttgga 60
 aaatgagaaa gathtagcaa aattccaccc tgctttgc caggctagag acagggagag 120
 cagagtaaaa ccctcaggct gctgaaattt ctaggctgtt aggaagcccc tcgaattctg 180
 tgaaaaatgag ggtttcttaa ctcacactga gagcggaaag gggcagaccc tttcataac 240
 tccctcaagt gtgtgttacc ttcttacc agcatgttaa gcaacaggac atatcccagc 300
 ctggacatg tctgtatgat ccaaggtacc caaagtcaaga cagagtaaac tcaaggctgg 360
 cactggctt ctggcgcttc atgtgctttg gaaaaagcag gagaagcaat agcagcagga 420
 gtccccagca gctggagccg caagaatgaa ctgcaaagag ggaactgaca gcagctgccc 480
 ctgcaggggc aacgacgaga agaagatgtt gaagtgtgtg gtgggtgggg acgggtgccgt 540
 ggggaaaaacc tgcctgctga tgagctacgc caacgacgccc ttccagagg aatacgtgcc 600
 cactgtgtt gaccactatg cagttactgt gactgtggga gccaagcaac acttgtcgg 660
 actgtatgac accgcgggac aggaggacta caaccagctg agccactct cctacccaa 720
 cacggatgtg ttttgcgtt gcttctctgt cgtaaaccct gcctcttacc acaatgtcca 780
 ggaggaatgg gtcccccggc tcaaggactg catgcctcac gtgcctttagt tcctcatagg 840
 gaccagatt gatctccgtg atgacccaaa aaccttggcc cgtttgctgt atatgaaaga 900
 gaaacctctc acttacgagc atgggtgaa gctcgaaaaa gcgatcgag cacagtcta 960
 ctiggaatgt tcagctctga ctcaagaaagg tctcaaaagcg gttttgatg aagcaatcct 1020
 caccatttc caccckaaga aaaagaagaa acgctttctt gagggtcaca gctgctgttc 1080
 aattatctga gttgtctgg gacctgcctc caccatcc agggatgaga atggcagcca 1140
 atctctgtgg ccaagctcca gccaaaaagg agggcacgac cagaaaggaa ctcccttgc 1200
 acggaggctt gccccatcac cctctgagcc ctcccaacac agcacactag tcagcccact 1260
 gccacgacct ccctgcccagc cagaagcatc cgtaactgcac gctgtctgag aatgctggc 1320
 ctggattgca gacagtggcg ctgctgtatcg catcaaaaac aaagtcaaag gccatctcac 1380
 attttacaaa tccccagctc atgaacgtga agctgatagg aatcacccc agggAACCCG 1440
 aaaaagaaac ttgattcttc tattgtggc cttacttgcatgtttata aaacttggga 1500
 ctacaatact aaccttttt tctgaatctg ctgttctacc catgtgtctc acattcattt 1560
 gtattatttc aagaaatgtt ctaatttcca gttcaactcag gccttactaa tccataccaa 1620
 attagcctaa agacaaggca ttttatattc atttctattt tcagcatgtt tctaccaaag 1680
 ctattagaac caacacgtac ctctgaatgc ccgattataa gaagacatga gaagacttta 1740
 aaagtttgg aaatttacag agccatgatt tttgaaccta atgaaagaa aaccatctga 1800
 attgttgcag gtccacattt ttgccaaaga tacactctat agatgcttag tagtggcctg 1860
 attttttcc atgtattgcc acgacaaact aaaaatgaac tgtgttt 1907

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Asn Cys Lys Glu Gly Thr Asp Ser Ser Cys Gly Cys Arg Gly Asn

1

5

10

15

Asp Glu Lys Lys Met Leu Lys Cys Val Val Val Gly Asp Gly Ala Val

20

25

30

27/175

Gly Lys Thr Cys Leu Leu Met Ser Tyr Ala Asn Asp Ala Phe Pro Glu
 35 40 45
 Glu Tyr Val Pro Thr Val Phe Asp His Tyr Ala Val Thr Val Thr Val
 50 55 60
 Gly Gly Lys Gln His Leu Leu Gly Leu Tyr Asp Thr Ala Gly Gln Glu
 65 70 75 80
 Asp Tyr Asn Gln Leu Arg Pro Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Asp Val Phe
 85 90 95
 Leu Ile Cys Phe Ser Val Val Asn Pro Ala Ser Tyr His Asn Val Gln
 100 105 110
 Glu Glu Trp Val Pro Glu Leu Lys Asp Cys Met Pro His Val Pro Tyr
 115 120 125
 Val Leu Ile Gly Thr Gln Ile Asp Leu Arg Asp Asp Pro Lys Thr Leu
 130 135 140
 Ala Arg Leu Leu Tyr Met Lys Glu Lys Pro Leu Thr Tyr Glu His Gly
 145 150 155 160
 Val Lys Leu Ala Lys Ala Ile Gly Ala Gln Cys Tyr Leu Glu Cys Ser
 165 170 175
 Ala Leu Thr Gln Lys Gly Leu Lys Ala Val Phe Asp Glu Ala Ile Leu
 180 185 190
 Thr Ile Phe His Pro Lys Lys Lys Lys Lys Arg Cys Ser Glu Gly His
 195 200 205
 Ser Cys Cys Ser Ile Ile
 210

<210> 26
 <211> 4869
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (150)..(4082)

<400> 26

```

aatgatttcc tcagtgatta cgtacagagc gagtccctgc gggtagggg cccctctgg 60
agccatcctg atggcttgg gggcttgct tccattttcc attattatgt ggactaccgg 120
agcgacagcg cagtccaaga ccttcagga tgtctcgccg caagcaagcg aaaccgagat 180
ccctcaaaga ccccaactgt aaacttgaag acaagactga agatggagag gcactagatt 240
gtaagaagag gccggaagac gggaggagt tggaagacga agctgtgcac agctgtgaca 300
gctgcctcca ggtgttgaa tcgttgacgc atatcacaga acacaagatt aatcaatgtc 360
aactgacaga tggagtggat gttgaagatg atccgacttg ctcttggcca gcttcctcac 420
cttctagcaa ggatcagact tcccctagcc atggagaagg ttgcgatttt ggagaggaag 480
aagggtggccc tgggcttcca tacccgtgtc aattctgtga caagtcgttt agccgcctca 540
gctacctaataa gcaccatgag cagagtaca gtgacaaact gccttcaaa tgcacact 600
gcagtaggct gttcaaacac aagcgcagcc gagatgccca cataaaaactc cacaccgggg 660
acaagaagta ccactgcagt gaatgtgatg ctgcgtttc cagaagtgtat cacttgaaga 720
  
```



tccacttaaa gactcacacg tccaacaagg catataaatg tgccatttgt cgccgtgggt 780
ttctgcctc tagttccta cacggacaca tgcaggttca tgagaggaac aaggacggct 840
ctcagtccgg ttccaggatg gaggactgga agatgaagga cactcagaag tgcagtcagt 900
gtgaggaagg ctttgacttc ccggaagacc tccaaaaaca cattgcagag tgccaccccg 960
aatgtcccc aaatgaggac cgagcggccc tccagtggt ctactgccac gagctctcg 1020
tagaggagac ctccctcatg aaccacatgg agcaggtgca tagcggggag aagaagaact 1080
catgcagcat ttgttctgag agtttccaca cagttgagga actgtacagc cacatggaca 1140
gtcaccagca accggagtca tgcaatcaca gcaacagccc ttccctggtc acgggtggct 1200
ataccctcggt gtccagtgac actccagatt ccaacctctc agtggacagc tcaaccatgg 1260
tggaaagctgc cccgccaatc ccaaagagtc gagggaggaa gagggccgct caacaaaccc 1320
ctgacatgac tggccctcg agtaaacaag caaaagttac ctacagctgt atttactgca 1380
acaaacaatt atttcaagt cttgcagttc tgcagattca cctgaaaact atgcacttag 1440
ataagccaga acaggcccattt attgtcagt attgcttggaa ggtcctgccc tcactctata 1500
acctaataatga acatcttaag caagtgcattt aagctcagga cccaggtctg attgttctg 1560
ccatgcctgc cattgtctac cagtgtaact tctgttccga agttgtcaac gacctaaca 1620
ctcttcagga acacatccga ttttctcatg gatttgcataa ccctgcagct aaagatagta 1680
atgcattctt ttgtccccat tgctatatgg gtttttcac tgactcttcc ctggaaagagc 1740
atattagaca ggttcattgtt gacctcagttt gctcccgatt tgggtctcca gtgcttgg 1800
ctccccaaga accagtagta gaagtcttattt cttgttccca ttgtacaaat tcgccaat 1860
tcaacagcgt tcttaaactg aacaaggcata tcaaagagaa tcataaaaac attcccttgg 1920
ccctgaatta tatccacaat ggaaagaaat ccagggcattt aagcccccta tctccgttgg 1980
ccatagagca gacatcttt aagatgtac aggcagtagg aggtgcaccc gcacgcccc 2040
ctggagaata tatctgttat cttgttggc tcaagtacac atcccttagac agctttcaga 2100
ctcacctaaa aactcatctc gacactgttgc ttccaaaattt gacctgttcc cagtgcaaca 2160
aggaattccc caaccaagaa tccttgctga agcatgttac catttactt atgatcactt 2220
caacgttata catctgttgc agttgttgcata agcaatttac atcagtggat gaccittcaga 2280
aacacctgct ggacatgcac acctttgtct tcttcgttgc caccctctgc caggaagttt 2340
ttgactcaaa agtctccattt cagtttccact tggctgttgc gacactgttac gaaaagaaa 2400
tctataggtt cacatcttgc aactgggact tccgcaacga aactgacttgc cagctccatg 2460
tgaacacaaa ccacctggaa aaccaaggaa aagtgcataa gtgcattttc tgccgttgc 2520
cctttggcac cgaggtggag ctgcatttgc acatcaccac tcacagtaag aagtacaact 2580
gcaagttctg tagcaaagcc ttccatgcata tcattttttt agaaaaacac ttgcgagaaa 2640
aacactgtgtt attcgaaacc aagacacccca actgttggac aatggagct tccgagcaag 2700
tgcagaaaga ggaagtggag ctgcagactt tgcttgcataa cagccaggag tcccaacaaca 2760
gtcacgttgc gagcgaagaa gacgttgcata cctcttgcata tatgtacggc tgccgacattt 2820
gtggggcagc ctacactatg gaaactttgc tgcagaatca ccagctccga gaccacaaca 2880
tcagacactgg agaaagtggc atcgttgcataa agaaagcttgc gtcattttt gggatttaca 2940
agtgcacgtt gtgcatttgc accttcttgc cggccatgg cttccggggaa catatgcaga 3000
cccaccttggcc cctgtcaaa cactacatgt gcccttattt cggagagccggttccctccc 3060
tttttaactct tactgaacac aaagtgcacgc atagtaagag tcttgcataact ggaaactgccc 3120
ggatttgcataa gatgcctctc caggttgcataa aggatttt agagcatttgc caaatgcacc 3180
ctgacttgcataa ttccatgcata aacggccatgc gtcgttgcata gtcattttt gggatttaca 3240
ccacccctggaa actcaaaaatc catgggacgt tccacatgcata aaagacaggg aatgggtctg 3300
cagttcagac cacagggcgg ggccagcacg tccaaaaact gtataagtgc gcatcttgc 3360
tcaaagaattt ccgttccaaatc caagatctgg tgaaacttgc tatcaatggc tgcctatgc 3420
gtctgtgtgc cggctgcgtt aatctcagta agagcggccag cccaggcatt aacgtccctc 3480
ccggcacgaa tagaccagggc ttggggccaga atgagaatctt gatgtccattt gaggggaaag 3540
gcaaggtggg gggacttgc acacgctgctt ctagctgcaatc cgttaagttt gatgtctgaaa 3600



gtgaactcca	gaaccacatc	caaaccatcc	accgagagct	cgtgccagac	agcaacagca	3660
cacagttaa	aacggccccaa	gtatcaccaa	tgcggcagaat	cagtccctcc	cagtcggatg	3720
agaagaagac	ctatcaatgc	atcaagtgtc	agatggttt	ctacaatgaa	tgggatattc	3780
aggttcatgt	tgccaaatcac	atgattgtat	aggactgaa	ccatgaatgc	aaactctgca	3840
gccagacctt	tgactctcct	gcccaaactcc	agtgcaccc	gatagagcac	agcttcgaag	3900
ggatgggagg	caccccaatcg	tgtccagtct	gctttacagt	atttgttcaa	gcaaaacaagt	3960
tgcagcagca	tatcccctct	gcccatggac	agaagacaa	gatctatgac	tgtacacaat	4020
gtccacacaaa	gttttcttc	caaacagagc	tgcagaatca	tacaatgacc	caacacagca	4080
gttagtgc当地	gtacagtctc	tcaaggagaa	ttgattttgt	ggcacaaaaa	gggaacatgt	4140
tttactctt	gcacgaaaact	ttcattgtta	atgtatatta	ttcagaaaaca	ttgtattgtt	4200
ccataaaaact	tgtatttatca	aactgttgga	tgttcatgtt	tttgaacttt	tgcgcacccgg	4260
atagacccct	tgttatataaa	gtgttcaca	tgttattatgt	cgtctgatac	taaaaatggtc	4320
tttataaagac	aagtggactt	ggccctatt	caggcaagat	taaaaaaaaaa	aaagactatg	4380
acccaaatgg	cttaagataa	agtatttttta	aggaagaaag	attaaaaaca	actgttatac	4440
atgagactat	ggttggactt	cctttcttt	acacttaagc	ctagaatttc	tcttttaggtt	4500
tatcagcgct	taaatccaaag	actatttttt	attgctgaag	attcttgc当地	accatgaaga	4560
gatgttctca	cagaacagaa	ccccacagct	ggataaggcc	cgtatataata	tatttgtaag	4620
ccttgcaatg	tgacaggtag	catcaactata	tatgcaatag	tttgttatgtt	gactgtcaaa	4680
gaatttttt	ttccctggat	acatttgaag	ctttgagttt	tcaaggttt	ccttaatgtat	4740
ttcacgcagc	caaattcttg	aatcagttga	actaacctgt	atgttactgt	tattaatgtt	4800
tactctgcag	tctgaacctg	gagattactg	gaatttgttt	ccaagaggaa	ataaaatttc当地	4860
tttaccatt						4869

, <210> 27

〈211〉 1311

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Ser Arg Arg Lys Gln Ala Lys Pro Arg Ser Leu Lys Asp Pro Asn
1 5 10 15

Cys Lys Leu Glu Asp Lys Thr Glu Asp Gly Glu Ala Leu Asp Cys Lys
20 25 30

Lys Arg Pro Glu Asp Gly Glu Glu Leu Glu Asp Glu Ala Val His Ser
35 40 45

Cys Asp Ser Cys Leu Gln Val Phe Glu Ser Leu Ser Asp Ile Thr Glu
 50 55 60
 His Lys Ile Asp Gln Cys Gln Leu Thr Asp Gln Val Asp Val Glu Asp

W T S Lys I I C Asn Gln S S Gln Lys W Rsp G I V A Rsp V A I Rsp V A I C I D N C
 65 70 75 80
 Asp Pro Thr Cys Ser Trp Pro Ala Ser Ser Pro Ser Ser Lys Asp Gln

Asp Thr Val Gly Ser Asp Phe Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu
 85 90 95

100 105 110
Gly Pro Gly Leu Pro Tyr Pro Cys Gln Phe Cys Asp Lys Ser Phe Ser
 115 120 125

115	120	125
Arg Leu Ser Tyr Leu Lys His His Glu Gln Ser His Ser Asp Lys Leu		
130	135	140

